

**Synthese von 25-Hydroxycastasteron und  
anderen phytohormonal wirksamen Brassinosteroiden**

**Dissertation**



zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät  
(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Dipl.-Chem. Dirk Lichtblau  
geb. am: 09.03.1968 in: Halberstadt

Gutachter:

1. Prof. G. Adam, Halle
2. Prof. R. Csuk, Halle
3. Prof. K.-H. Seifert, Bayreuth

Halle (Saale), den 23.09.1999

## **Bibliographische Beschreibung**

---

LICHTBLAU, Dirk

Synthese von 25-Hydroxycastasteron und  
anderen phytohormonal wirksamen Brassinosteroiden

109 Seiten, 30 Schemata, 21 Abbildungen, 26 Tabellen, 235 Literaturstellen

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät  
(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)

Dissertation A

---

## Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole.....	iv
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Grundlagen.....</b>	<b>4</b>
2.1. Nomenklatur und Struktur der Brassinosteroide.....	4
2.2. Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	5
2.3. Biosynthese und Metabolismus der Brassinosteroide.....	6
2.4. Biotestung der Brassinosteroide.....	9
2.4.1. Reis-Lamina-Inklinationstest (RLI-Test).....	9
2.4.2. <i>Arabidopsis</i> -Mangelmutanten-Hypocotyllängentest ( <i>Ara</i> MH-Test).....	10
2.5. Wege zur Synthese von Brassinosteroiden.....	11
2.5.1. Die Funktionalisierung des A/B-Ringsystems.....	12
2.5.2. Der Seitenkettenaufbau.....	13
<b>3. Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>15</b>
3.1. Zielverbindungen und Retrosynthese.....	15
3.2. Synthese des 22-Aldehydes.....	16
3.3. Synthese von Castasteron und Brassinolid.....	18

---

<b>3.4. Synthese von 25-Hydroxycastasteron.....</b>	<b>21</b>
3.4.1. Seitenkettenaufbau mit 3-(Tetrahydropyran-2'-yloxy)- 3-methyl-but-1-in.....	21
3.4.2. Synthese des Castasteron-Derivates mit annelierter Dioxonan-Seitenkette.....	23
3.4.3. Seitenkettenaufbau mit 3-Benzyl-3-methyl-but-1-in.....	26
<b>3.5. Versuche zur Synthese von 25-Hydroxycastasteron über 25-Hydroxydolichosteron.....</b>	<b>28</b>
3.5.1. Propargylumlagerung zum Allen.....	28
3.5.2. Bisepoxidation und Hydrolyse zum $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxyketon.....	30
3.5.3. Synthese von 25-Hydroxy-23-epidolichosteron durch Olefinierung.....	31
3.5.4. Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe.....	34
<b>3.6. Regioselektive Oxyfunktionalisierung.....</b>	<b>37</b>
3.6.1. Synthese von 25-Hydroxy- und 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasteron.....	37
3.6.2. Synthese von 25-Hydroxybrassinolid.....	38
<b>3.7. Synthese von 25-Methylcastasteron und 25-Methylbrassinolid.....</b>	<b>40</b>
<b>3.8. Zur HPLC-Analytik ausgewählter Intermediate.....</b>	<b>42</b>
<b>3.9. Biotestergebnisse und Struktur-Wirkungsbeziehungen.....</b>	<b>44</b>
3.9.1. 22-Propargylalkohole und 22-Ketone als mögliche Inhibitoren der Wachstumsnormalisierung bei den <i>Arabidopsis</i> -Mangelmutanten.....	44
3.9.2. Reis-Lamina-Inklinationstest der Zielverbindungen und anderer bioaktiver Brassinosteroide.....	46
<b>3.10. Brassinosteroide mit Langzeitwirkung - TS303 und Isomere.....</b>	<b>48</b>
3.10.1. Synthese, Reinigung und Analytik.....	49
3.10.2. Die biologische Aktivität von TS303 und weiteren Isomeren im Reis-Lamina-Inklinations- und im <i>Arabidopsis</i> -Mangelmutanten- Hypocotyllängentest.....	51

<b>4. Experimentieller Teil.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1. Allgemeine Untersuchungsverfahren.....</b>	<b>54</b>
<b>4.2. Synthese des 22-Aldehydes .....</b>	<b>56</b>
<b>4.3. Synthese von Castasteron und Brassinolid.....</b>	<b>60</b>
<b>4.4. Synthese von 25-Hydroxycastasteron und 25-Hydroxybrassinolid.....</b>	<b>66</b>
4.4.1. Seitenkettenaufbau unter Verwendung der THP-Schutzgruppe.....	66
4.4.2. Seitenkettenaufbau unter Verwendung der Benzyl-Schutzgruppe.....	71
4.4.3. Seitenkettenaufbau über 25-Hydroxy-23-epidolichosteron.....	75
4.4.4. Synthese von 25-Hydroxycastasteron und 25-Hydroxybrassinolid durch Oxyfunktionalisierung mit Methyl(trifluormethyl)dioxiran.....	81
<b>4.5. Synthese von 25-Methylcastasteron und 25-Methylbrassinolid.....</b>	<b>86</b>
<b>4.6. Synthese von TS303 und Isomeren.....</b>	<b>91</b>
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>94</b>
<b>6. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>97</b>

## **Anhang**

NMR-Tabellen

Danksagung

Lebenslauf

Erklärung

## Abkürzungsverzeichnis

AraMH-Test	<i>Arabidopsis</i> -Mangelmutanten-Hypocotyllängentest; <i>Arabidopsis</i> -Cabbagemutanten-Hypocotyllängentest
Äquiv.	Äquivalent
BL	Brassinolid
BR	Brassinosteroid
Br's	Brassinosteroide
CA	Castasteron
DC	Dünnschichtchromatographie
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMB	3,3-Dimethyl-but-1-in
DMD	Dimethyldioxiran
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOH	Ethanol
EI-MS	Elektronenstoß-Massenspektrometrie
HR-MS	hochauflösende Massenspektrometrie
ESI-MS	Elektrospray-Massenspektrometrie
<i>J</i>	Kopplungskonstante
MB	3-Methyl-but-1-in
MBBr	1-Brom-3-methyl-buta-1,2-dien
MBO	2-Methyl-but-3-in-2-ol
MBOT	3-(Tetrahydropyran-2'-yloxy)-3-methyl-but-1-in
MBOBn	3-Benzyloxy-3-methyl-but-1-in
MCPBA	Metachlorperbenzoesäure
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
NMMNO	N-Methyl-morpholin-N-oxid
n.z.	nicht zugeordnet
LDA	Lithiumdiisopropylamid
Lit.	Literatur
Lsg.	Lösung
Lsgm.	Lösungsmittel
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PPTS	Pyridiniumparatoluolsulfonat
$R_f$	relative Wanderungsgeschwindigkeit
$R_t$	Retentionszeit
RLI-Test	Reis-Lamina-Inklinationstest
Schmp.	Schmelzpunkt
Kp.	Siedepunkt
TFD	Methyl(trifluormethyl)dioxiran; 1,1,1-Trifluor-dimethyldioxiran
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
<i>p</i> -TsOCl	<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid

## 1. Einleitung

Auf der Suche nach phytoeffektorisch wirksamen Pflanzenstoffen gewannen Mitchell *et al.* im Jahre 1970 aus Pollen von *Brassica napus* L. (Raps) einen als "Brassins" bezeichneten Extrakt [1-5], der bei Applikation auf junge Bohnenpflanzen starke wachstumsstimulierende Wirkung zeigte [6]. Durch die Isolierung von 4 mg des bioaktiven Naturstoffes aus 40 kg Rapspollen durch Grove *et al.* und der Strukturaufklärung mittels Röntgenstrukturanalyse wurde 1979 die nach ihrem Vorkommen Brassinolid genannte Verbindung entdeckt [7]. Novum der ungewöhnlichen Steroidstruktur ist der siebengliedrige Lacton-B-Ring, der erstmals bei den natürlich vorkommenden Steroiden und zudem mit vicinalen Diolfunktionen im Ring-A und in der Seitenkette zusammen auftrat [8].

Die hohe wachstumsstimulierende Wirkung und die ungewöhnlichen Strukturmerkmale waren Ausgangspunkt für umfangreiche phytochemische Untersuchungen [9-15]. In ihrem Verlauf wurden inzwischen über 40 weitere endogene Vertreter dieser als Brassinosteroide bezeichneten Stoffklasse aus verschiedenen Pflanzen isoliert [8,11,16-23]. Geringste Mengen (ng/Pflanze) dieser "botanischen Juvenilhormone" bewirken eine Beschleunigung der Zellstreckung und Zellteilung. Speziell fördern sie das Wachstum von jungem Pflanzengewebe und stimulieren in submikromolaren Konzentrationsbereichen ( $10^{-7}$  bis  $10^{-12}$ M) Differenzierungsprozesse sowie die Photosynthese. Ein weiterer Effekt nach exogener Applikation ist die Antistresswirkung [9,24-26], die sich in der Erhöhung der pflanzlichen Resistenz gegenüber Stressfaktoren wie Kälte, Trockenheit, Übersalzung und pathogener Infektion äußert. Weiterhin umfaßt das multiple physiologische Wirkungsspektrum der Brassinosteroide insbesondere Membraneffekte, die Aktivierung verschiedener Enzyme und die Stimulierung der Bildung spezifischer Proteine [9].

Die biologische Prüfung der Brassinosteroide in Testsystemen der klassischen Phytohormone Auxine, Gibberelline und Cytokinine [10,12,27,28] zeigte, daß sich die Brassinosteroide keiner dieser Klassen zuordnen lassen. In einigen Auxin-Testsystemen wurden mit Brassinosteroiden synergistische Interaktionen [29], bei Untersuchungen zur Genexpression von Soja-Epicotylen ein von Auxinen verschiedener Mechanismus festgestellt [30,31]. Mit Gibberellinen werden additive Effekte beobachtet und mit Cytokinin sind die Effekte unterschiedlich [8]. Brassinosteroide und die klassischen Phytohormone modulieren ihre Wirkung wechselseitig und zeigen Interaktionen mit Licht und anderen Signalen aus ihrer Umwelt [32-38]. Die Aufnahme durch die Pflanze, der Transport und die Konjugation erfolgen ähnlich wie bei den klassischen Phytohormonen [39-42]. Ein wichtiger kausaler Zusammenhang zwischen dem Wachstum einer Pflanze und Brassinosteroiden konnte durch die Normalisierung von *Arabidopsis*-Mangelmutanten nach exogener Applikation von Brassinosteroiden nachgewiesen werden [43-45]. Insgesamt muß von den Brassinosteroiden als einer neuen Klasse endogener Phytohormone zusätzlich zu Auxinen, Gibberellinen, Cytokininen, Abscisinsäure und Ethylen gesprochen werden.

Brassinosteroide wurden aus einer großen Anzahl von Pflanzen isoliert [8,11,16-23]. Aus diesen vielfältigen Vorkommen wird auf eine ubiquitäre Verbreitung dieser Wachstumsregulatoren bei den höheren Pflanzen geschlossen [28,16,18]. So wurden diese Naturstoffe bei Bedecktsamern (Angiospermen) und in den Pollen und Sprossen von Nacktsamern (Gymnospermen) gefunden. Sie sind enthalten in den Samen und Sprossen von einkeimblättrigen (Monokotyledonen) und in Pollen, Samen, Antheren, Sprossen und Blättern von zweikeimblättrigen Pflanzen (Dikotyledonen). Auch in wichtigen Kulturpflanzen wie Raps (*Brassica napus* L.) [7], Reis (*Oryza sativa* L.) [46-48], Roggen (*Secale cereale* L.) [49], Mais (*Zea mays* L.) [50-52], Tee (*Thea sinensis* L.) [53,54], Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) [55], Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) [56] und in Kiefern (*Pinus sylvestris* Lour., *Pinus thunbergii* Parl.) [57,58] wurden Brassinosteroide identifiziert. Außerdem wurden Brassinosteroide aus Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana* (L.) Henyh.) [59-61], den Strobili des Schachtelhalmes (*Equisetum arvense* L.) [62], aus Kolonien der Grünalge (*Hydrodictyon reticulatum*) [63,64], sowie aus verschiedenen Zellkulturen isoliert [65-68]. In den einzelnen Pflanzenarten kommen dabei meistens Gemische verschiedener Brassinosteroide vor. Die pro Kilogramm Pflanzenmaterial isolierten Mengen liegen normalerweise in den oberirdischen Pflanzenteilen im Nanogrammbereich und in den Samen im Mikrogrammbereich. Dagegen zeichnen sich Pollen mit hohen Gehalten von mehreren hundert Mikrogramm pro Kilogramm Pflanzenmaterial aus [9]. Bemerkenswert ist der im Vergleich zu den Blättern der Wirtspflanze bis zu 300-fach höhere Gehalt an 6-Oxobrassinosteroiden in Insektengallen der Hamamelidaceae *Distylium racemosum* [69]. In Wurzeln konnten bisher keine Brassinosteroide nachgewiesen werden [9].

Eine intensive Bearbeitung erfahren auch praxisrelevante Ansätze [21,70] in der Landwirtschaft und im Gartenbau, die sich besonders aus den wachstumsfördernden und Antistresswirkungen der Brassinosteroide ergeben [9,11]. Obwohl für diese Anwendungen nur wenige Milligramm dieser Naturstoffe pro Hektar landwirtschaftliche Nutzpflanzen wie Getreide, Leguminosen, sowie verschiedene Obst- und Gemüsesorten eingesetzt werden, wurden Ertragsteigerungen von bis zu 60% beobachtet [21]. Viele dieser Entwicklungen wurden daher patentiert. Aber auch Antiecdysonwirkung bei Insekten [71,72] sowie Förderung der Stecklingsbewurzelung bei der Fichte *Picea abies* sind von potentieller Praxisrelevanz [73]. Neben diesen Anwendungen wurden in den letzten Jahren verstärkte Bemühungen zur optimalen Formulierung von Brassinosteroiden für die Felderprobung unternommen, um Verbindungen mit langanhaltender Aktivität zu finden [70,74,75]. Ein strukturmodifiziertes Brassinosteroid, genannt TS303, zeigt günstige Effekte bei Keimung, Frucht-, Wurzelbildung und Ertrag für eine Anzahl von Nutzpflanzen [70,76-78].

In den letzten Jahren werden zunehmend biochemische und molekularbiologische Untersuchungen durchgeführt [79-84]. Neben Biogenese [21,80,82,85] und Metabolismus [13,41,82,86-97] wird der Charakterisierung des Rezeptors besondere Bedeutung zuteil. Als wesentlicher Beitrag ist die Auffindung von Brassinosteroid-Mangelmutanten

[80,98,99] bei *Arabidopsis thaliana* [43-45,100-104] und Erbse [105,106] zu werten. Aber auch Arbeiten über die Enzymologie des Brassinosteroid-Stoffwechsels [107] und "Molekular Modeling"-Studien [108,109] werden Beiträge zur molekularen Wirkung liefern.

Da die Gewinnung größerer Mengen der verschiedenen Brassinosteroide am geringen Gehalt in pflanzlichen Ressourcen scheitert, wurden schon ein Jahr nach der Strukturaufklärung von Brassinolid drei verschiedene Synthesen entwickelt [110-112]. In der Folgezeit wurden in enger Verflechtung mit den biologischen Untersuchungen weitreichende chemische, insbesondere synthetische Arbeiten initiiert. Der dringende Substanzbedarf für biologische und in zunehmenden Maße auch für molekularbiologische Arbeiten läßt diese Synthesebemühungen unvermindert anhalten [8,11,21,113-119]. Schwerpunkte sind die Darstellung natürlich vorkommender Brassinosteroide und ihrer Strukturanaloga einschließlich deren radioaktiver Markierung [120-124] zur biologischen Prüfung, sowie für Biogenese- und Metabolismusuntersuchungen.

Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit sind Metabolismus-Untersuchungen des haleschen Arbeitskreises, die zeigten, daß 24-Epibrassinolid in Zellkulturen von Tomaten zu 25-[ $\beta$ -D-Glucopyranosyloxy]-24-epibrassinolid metabolisiert wird [88,89]. Für das freie 25-Hydroxy-24-epibrassinolid wurde im Reis-Lamina-Inklinationstest eine Aktivitätssteigerung festgestellt [89]. Es ist denkbar, daß die 25-Hydroxylierung als finaler Schritt der Brassinosteroid-Biosynthese stattfindet und zum eigentlichen, am Rezeptor bindenden Wirkmolekül führt. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß der 25-Hydroxyfunktion bei Ecdysonen und Vitamin-D-Metaboliten [125] eine große Bedeutung für die biologische Aktivität dieser Steroidhormone zukommt.

Auf der Grundlage dieser Vorarbeiten sind die Ziele dieser Arbeit wie folgt definiert:

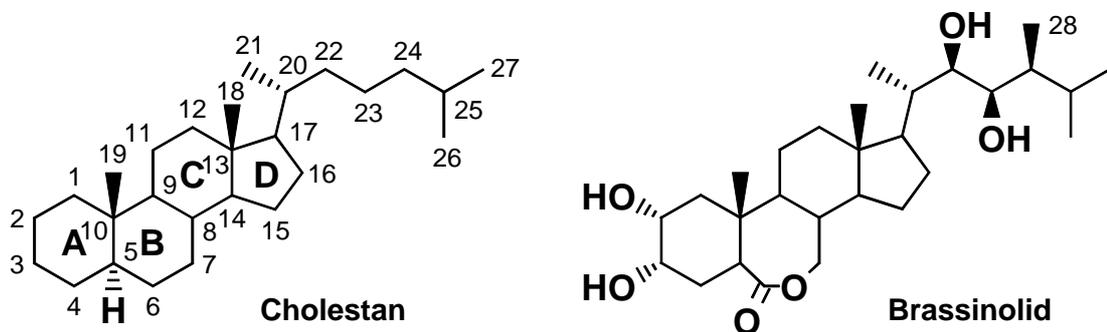
1. Synthese der als mögliche Endstufen der Biosynthesekette postulierten Brassinosteroide 25-Hydroxycastasteron und 25-Hydroxybrassinolid.
2. Synthese von 25-Methylcastasteron und 25-Methylbrassinolid für NMR-Untersuchungen und Molecular Modeling.
3. Biotestung und Untersuchung der Struktur-/Wirkungsbeziehungen dieser Brassinosteroide und synthetischer Vorstufen.
4. Darstellung von TS303 und Isomeren, sowie Vergleich von Reis-Lamina-Inklinations- und *Arabidopsis*-Mangelmutanten-Hypocotyllängentest anhand dieser strukturell ähnlichen Verbindungen mit unterschiedlicher Bioaktivität.

Mit diesen Arbeiten sollen die stofflichen Voraussetzungen sowohl für weiterführende biologische und molekularbiologische Untersuchungen als auch für anwendungsorientierte Experimente geschaffen werden, die gemeinsam mit Kooperationspartnern vorgesehen sind.

## 2. Grundlagen

### 2.1. Nomenklatur und Struktur der Brassinosteroide

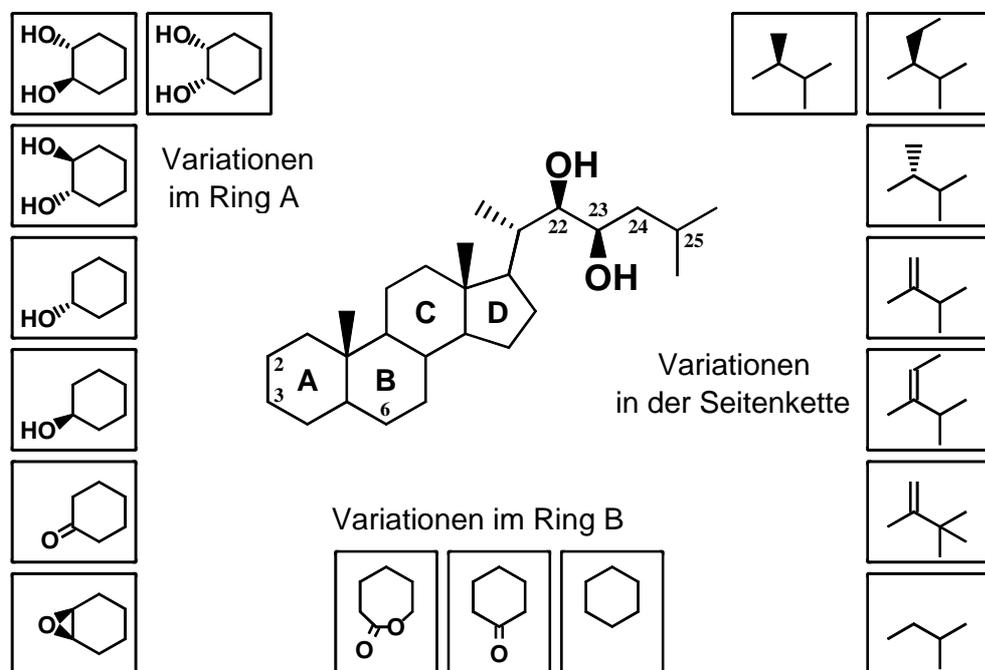
Die konsequente Anwendung der systematischen Nomenklatur auf die Steroide würde zu unübersichtlichen Namen führen. Gemäß den Empfehlungen der IUPAC [126] werden die Grundgerüste deshalb mit Trivialnamen bezeichnet. Die Nomenklatur der Brassinosteroide wird dementsprechend vom  $5\alpha$ -Cholestan-Grundkörper abgeleitet. Die vier Ringe des Steroidgerüsts sind jeweils in *trans*-Stellung miteinander verknüpft, als Bezugspunkt für die sterische Anordnung wurde die angulare Methylgruppe am Kohlenstoffatom C-10 festgelegt. Sämtliche H-Atome und Substituenten, die sich mit dieser auf der Vorderseite des Moleküls befinden, werden als  $\beta$ -ständig bezeichnet und durch einen ausgezogenen Keil symbolisiert. Die auf der Rückseite des Moleküls befindlichen sind  $\alpha$ -ständig und werden gestrichelt dargestellt. Die Struktur und die Stereochemie von Brassinolid (**18**), dem ersten Vertreter dieser neuen Wirkstoffklasse, konnte durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt werden (Schema 1) [7, vgl. auch 127]. Die Benennung nach der Nomenklatur erfolgte als (22*R*,23*R*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24-methyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on. Weitere für die Brassinosteroide verwendete Präfixe sind Homo- (eine C-Einheit mehr), Nor- (eine C-Einheit weniger) und Epi- (veränderte Konfiguration).



**Schema 1.** Die Nomenklatur von Brassinolid.

Die Strukturvielfalt der natürlichen Brassinosteroide kommt durch die unterschiedliche Funktionalisierung des A/B-Ringsystems und der Seitenkette zum Ausdruck (Schema 2) [8,16]. Charakteristisch für die biologisch aktiven Brassinosteroide ist eine vicinale 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Diolgruppe im Ring A. Neben möglichen Epimerisierungen der 2- und 3-Position besitzen einige Vertreter nur eine Hydroxygruppe in 3 $\alpha$ -Position (2-Deoxybrassinolid, Typhasterol) oder in 3 $\beta$ -Stellung (3-Epi-2-deoxy-25-methyldolichosteron, Teasteron). 3-Oxoteasteron und 3-Dehydro-6-deoxoteasteron enthalten im A-Ring eine 3-Oxo-Funktion [128,129], zwei weitere natürliche Brassinosteroide, das Secasteron [49] und sein 24-Epimeres [130] verfügen über eine 2 $\beta$ ,3 $\beta$ -Epoxyfunktion. Typisch für den B-Ring der Brassinosteroide ist ein siebengliedriger 6-Oxo-6 $\alpha$ -oxa-Lactonring. Es kommen auch Vertreter mit sechsgliedrigem Ring und 6-Oxo-Funktion vor, wesentlich seltener sind die 6-Deoxo-

Brassinosteroide. Die ebenfalls biologisch aktiven 6-Oxo-Verbindungen, wie Castasteron, gelten als biogenetische Vorstufen des entsprechenden Lactontypes (Schema 3) [39]. Alle natürlich vorkommenden Br's sind durch eine (22*R*,23*R*)-Diolgruppierung gekennzeichnet. Die Seitenketten der einzelnen Vertreter weisen unterschiedliche Substitutionsmuster an C-24 auf. Diese Muster reflektieren die verschiedenen Phytosterole als Biogenesevorstufen. Bezogen auf die Cholestan-Seitenkette treten folgende Alkylierungstypen auf: (24*S*)-Methyl, (24*S*)-Ethyl (28-Homo), (24*R*)-Methyl, 24-Methylen, 24-Ethyliden, 24-Methyliden-25-methyl (25-Homo) und 24-Nor (Schema 2). Mit 23-O- $\beta$ -*D*-Glucopyranosyl-25-methylidolichosteron [131] und 23-O- $\beta$ -*D*-Glucopyranosyl-2-epi-25-methylidolichosteron aus Samen der Gartenbohne *Phaseolus vulgaris* [16] und Teasteron-3-myristat aus Antheren von Lilien *Lilium longiflorum* [128] wurden die ersten Brassinosteroidkonjugate aus Pflanzen isoliert.



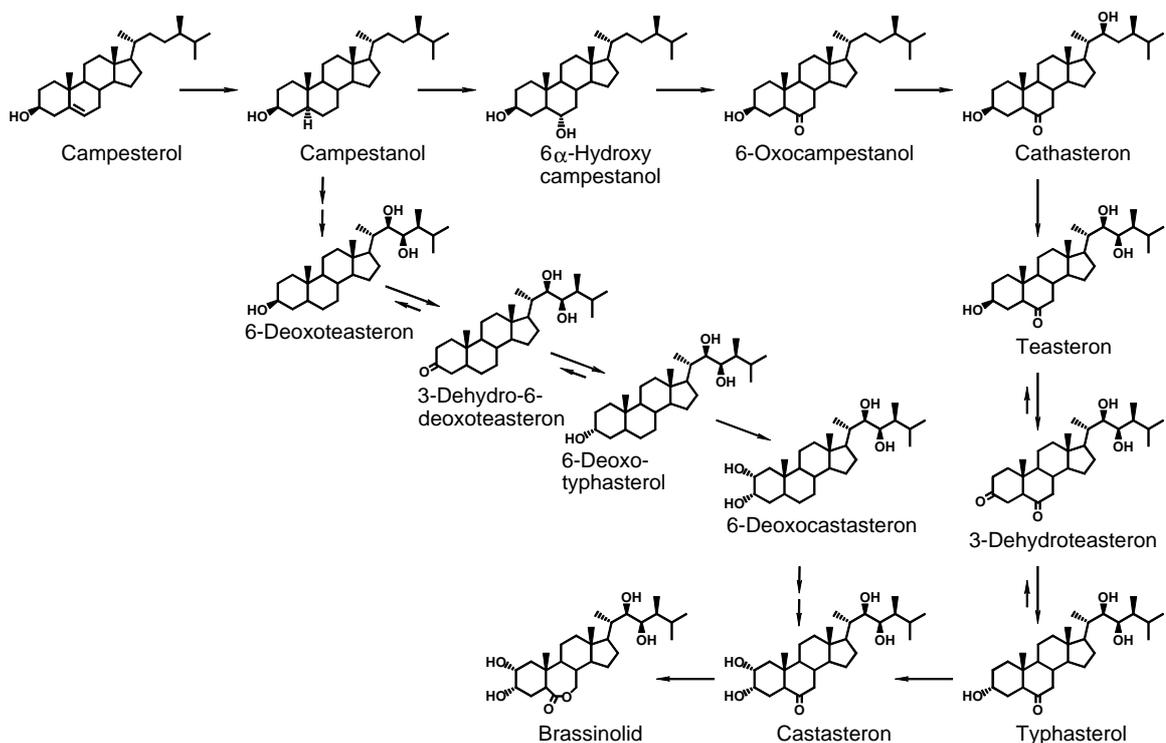
**Schema 2.** Variationen bei den natürlich vorkommenden Brassinosteroiden [80,132].

## 2.2. Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Für eine hohe biologische Aktivität ist das Vorhandensein von bestimmten funktionellen Gruppen erforderlich [10,21,133-137]. In der Seitenkette ist das wichtigste Merkmal die Diolgruppe in 22,23-Position, wobei Brassinosteroide mit (22*R*,23*R*)-Konfiguration erheblich aktiver sind als mit (22*S*,23*S*)-Konfiguration. Brassinosteroide mit vicinaler 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Diolgruppe zeigen eine höhere Aktivität als Vertreter mit monohydroxyliertem A-Ring. In Bezug auf den Ring B tritt die höchste Aktivität bei 6 $\alpha$ -Oxalactonen auf, die 6-Oxo-Verbindungen sind weniger wirksam. Weiterhin sind die Alkylgruppen an C-24 wichtig, hier wird die höchste biologische Aktivität mit einer (24*S*)-Methylgruppe erreicht.

### 2.3. Biosynthese und Metabolismus der Brassinosteroide

Brassinosteroide können nach der Anzahl der Kohlenstoffatome der Seitenkette in C<sub>27</sub>-, C<sub>28</sub>- oder C<sub>29</sub>-Steroide eingeteilt werden. Die Strukturen der Seitenketten sind von Phytosterolen bekannt. Das deutet daraufhin, daß sich die verschiedenen Brassinosteroide aus den Phytosterolen mit entsprechender Seitenkette ableiten lassen. Diese wiederum werden aus Cycloartenol durch eine Reihe von Reaktionen einschließlich einfacher oder doppelter Methylierung in der Seitenkette biosynthetisiert [80]. Die C<sub>27</sub>-Brassinosteroide ohne 24-Alkylgruppe entstehen wahrscheinlich aus Cholesterol. Die C<sub>28</sub>-Bausteine mit einer Methylgruppe an C-24 werden in Abhängigkeit von der Stereochemie derselben von Campesterol bzw. 24-Epicampesterol ausgehend aufgebaut. Entsprechend sollten die Brassinosteroide mit einer Methylengruppe in Position C-24 aus 24-Methylencholesterol gebildet werden. Weiterhin steht für die C<sub>29</sub>-Brassinosteroide Stigmasterol als Startmaterial in der Pflanze zur Verfügung.

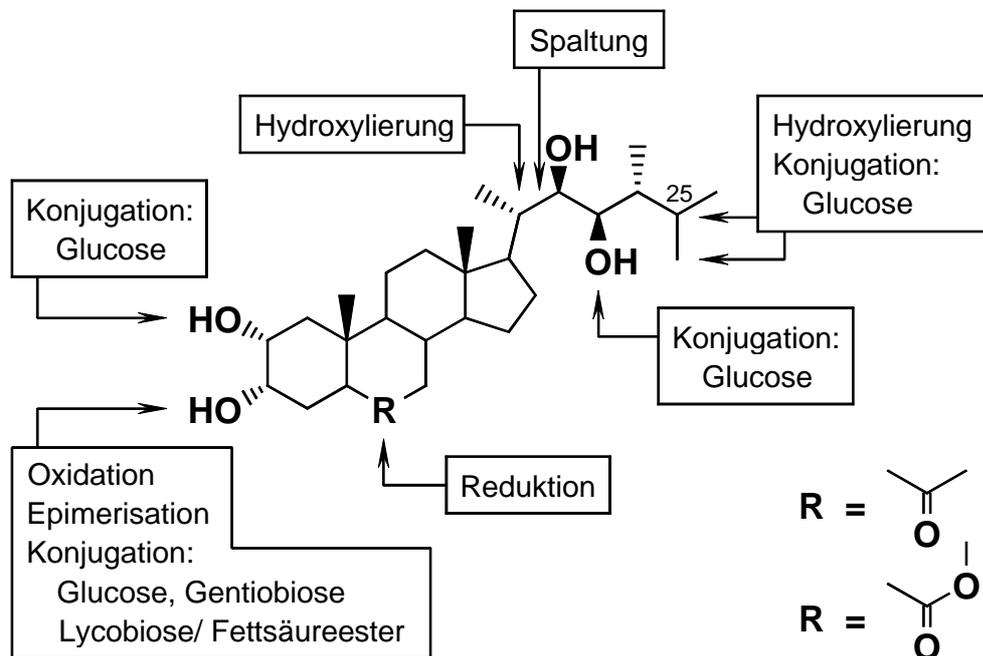


**Schema 3.** Biosynthese von Brassinolid (**18**). "Früher" (rechts) und "später" 6-Oxo-Weg (links) [80,20].

Am besten untersucht ist die Biosynthese von Brassinolid (**18**). Ausgehend von Campesterol wurde die Sequenz mit der C-6 Oxidation vor Funktionalisierung von A-Ring und Seitenkette zuerst aufgeklärt ("früher" 6-Oxo-Weg) (Schema 3). Außerdem wurde ein weiterer Biosyntheseweg nachgewiesen, bei dem die C-6 Oxidation erst zu einem späteren Zeitpunkt stattfindet ("später" 6-Oxo-Weg). Es wurde beobachtet, daß beide Wege in einer Pflanze auftreten können.

Die meisten Erkenntnisse über die Biosynthese von Brassinolid (**18**) wurden durch die Fütterung markierter Intermediate (zum Teil radioaktiv) an Zellkulturen verschiedener Pflanzen und die Untersuchung der gebildeten Metabolite gewonnen. In letzter Zeit haben sich völlig neue Möglichkeiten für die Aufklärung der Biogenese und ihrer Steuerung durch den Einsatz von Brassinosteroid-Mangelmutanten ergeben.<sup>1</sup> Bei diesen Mutanten sind Stufen der Brassinolid-Biosynthese blockiert. Da Brassinolid (**18**) nicht gebildet werden kann, zeigen solche Mutanten eine drastisch verringerte Wuchshöhe und einen veränderten Habitus (vgl. 2.4.2.). Durch exogene Applikation von synthetischen Verbindungen des Biosyntheseweges kann eine Normalisierung des Wachstums erreicht und somit die Stelle des Blocks genau lokalisiert werden.

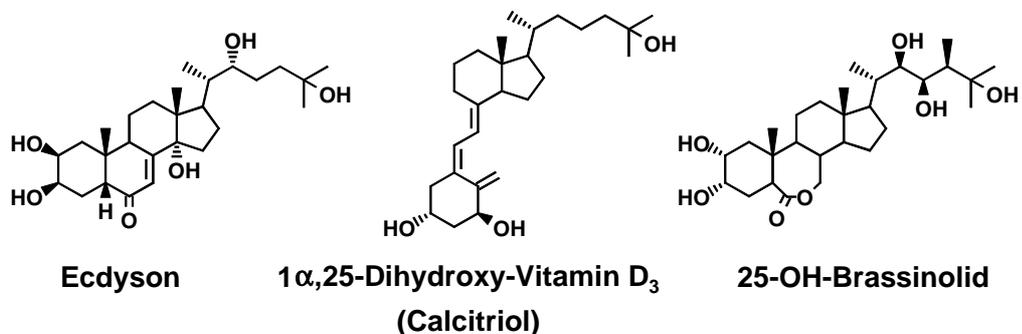
Für die Experimente zum Metabolismus der Brassinosteroide wurden meist Verbindungen der synthetisch besser zugänglichen 24-Epi-Reihe (24*R*-Methyl) verwendet [138,139]. 24-Epibrassinolid und 24-Epicastasteron werden mit Deuterium bzw. Tritium im B-Ring [121,123] oder in der Seitenkette [120,124] markiert und dann Zellkulturen verschiedener Pflanzen verabreicht. Dadurch konnten weitreichende Einblicke in den Metabolismus der Brassinosteroide gewonnen werden (Schema 4).



**Schema 4.** Durch Metabolismus modifizierte Positionen im Brassinosteroidmolekül [140].

<sup>1</sup> Die meisten Mangelmutanten wurden bisher von *Arabidopsis thaliana* erzeugt. So gibt es neben der Blockierung der Steroidhydroxylase (*ccb1* = cabbage, auch *dwf1-6* = dwarf; *ccb3* (*cpd*)) und Steroidreduktase (*det2*) noch andere Mutanten wie *bri1* (*ccb2*). Weitere Mutanten wurden aus der Erbse (*lka* und *lkb*) und der Tomate (*dampy*) gewonnen.

Nach diesen Untersuchungen sind grundlegende Aussagen über den Ablauf des Metabolismus möglich. Während die Konjugate mit Glucose [16,131] sowie mit Gentiobiose oder Lycobiose [95] möglicherweise der Speicherung der Brassinosteroide dienen, konnte bisher nicht zweifelsfrei geklärt werden, ob die Hydroxylierungen an C-25 und C-26 (mit nachfolgender Glycosidierung) einen letzten Aktivierungsprozeß oder bereits den ersten Abbauschritt darstellen [88,89]. Denn gerade die 25-Hydroxylierung ist auch von anderen steroidal Hormonen bekannt. So entsteht erst durch die Hydroxylierungen des Vitamin D<sub>3</sub> in 25- und 1 $\alpha$ -Position das bioaktive Calcitriol (1 $\alpha$ ,25-Dihydroxycholecalciferol) [125]. Da das Calcitriol nur in geringen Mengen im Körper vorkommt, wurde anfangs das Vitamin D<sub>3</sub> für den Wirkstoff gehalten. Mittlerweile ist bekannt, daß das Vitamin D<sub>3</sub> die Speicherform für das in höheren Konzentrationen stark toxisch wirkende Calcitriol darstellt. Von Bedeutung ist die 25-Hydroxylierung auch bei den Ecdysonen für die biologische Wirkung als Juvenilhormone der Insekten (Schema 5).



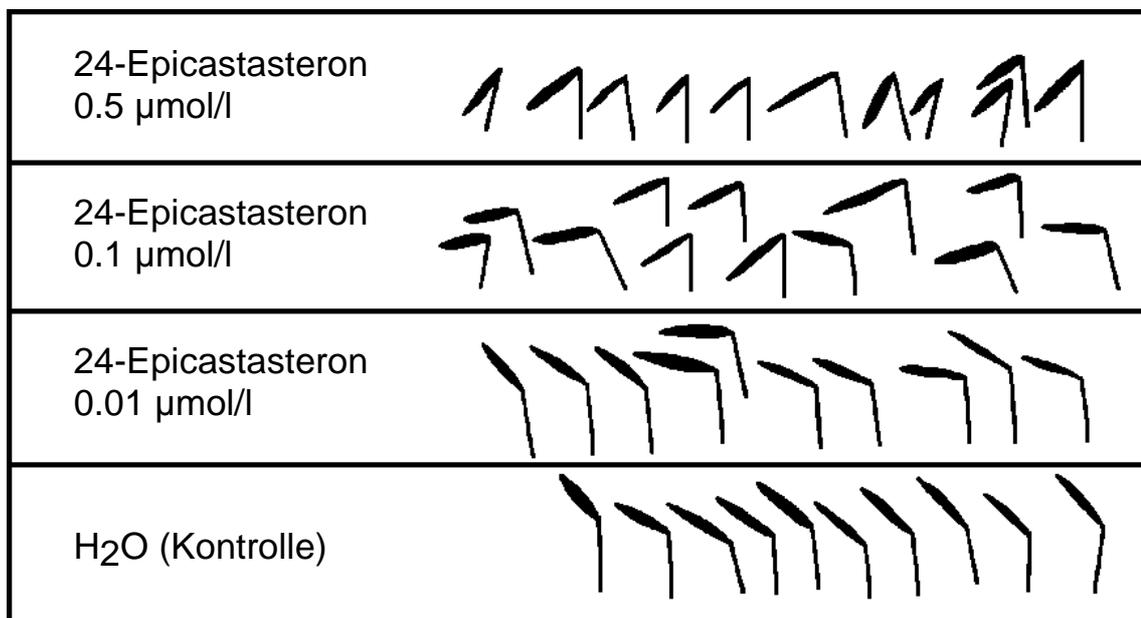
**Schema 5.** 25-Hydroxylierungen bei steroidal Hormonen.

Möglicherweise stellt die Epimerisierung der Hydroxygruppe in 3-Position den ersten Schritt im Katabolismus der Brassinosteroide dar. Diese Epimerisierung in 3-Position verläuft über ein reversibles Oxidations-Reduktions-System [20,96], an dem 3-Ketone beteiligt sind [93,96]. Anschließend wird das 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -Diol entweder glycosidiert [93] oder die 3 $\beta$ -Hydroxygruppe wird mit Fettsäuren verestert [90]. Der weitere Abbau erfolgt durch Hydroxylierung von C-20 und Spaltung der C-20/22 Bindung zum Pregnantyp. Nach der Abspaltung der Seitenkette konnte weiterhin eine Reduktion der 6-Ketofunktion nachgewiesen werden [87].

## 2.4. Biotesting der Brassinosteroide

### 2.4.1. Reis-Lamina-Inklinationstest (RLI-Test)

Der Reis-Lamina-Inklinationstest [141] (lamina joint test), bei dem die Abwinkelung des 1. Fahnenblattes gekappter Reissämlinge gemessen wird (Abbildung 1), wurde ursprünglich als Biotest für die Phytohormongruppe der Auxine entwickelt [142]. Nach Versuchen mit Brassinosteroiden konnte eine bis zu  $10^5$ -fache Wirkung im Vergleich zu Auxinen festgestellt werden [143]. Wegen der recht einfachen Handhabung ist der RLI-Test mit einer Nachweisgrenze von  $10^{-13}$  M am weitesten verbreitet.



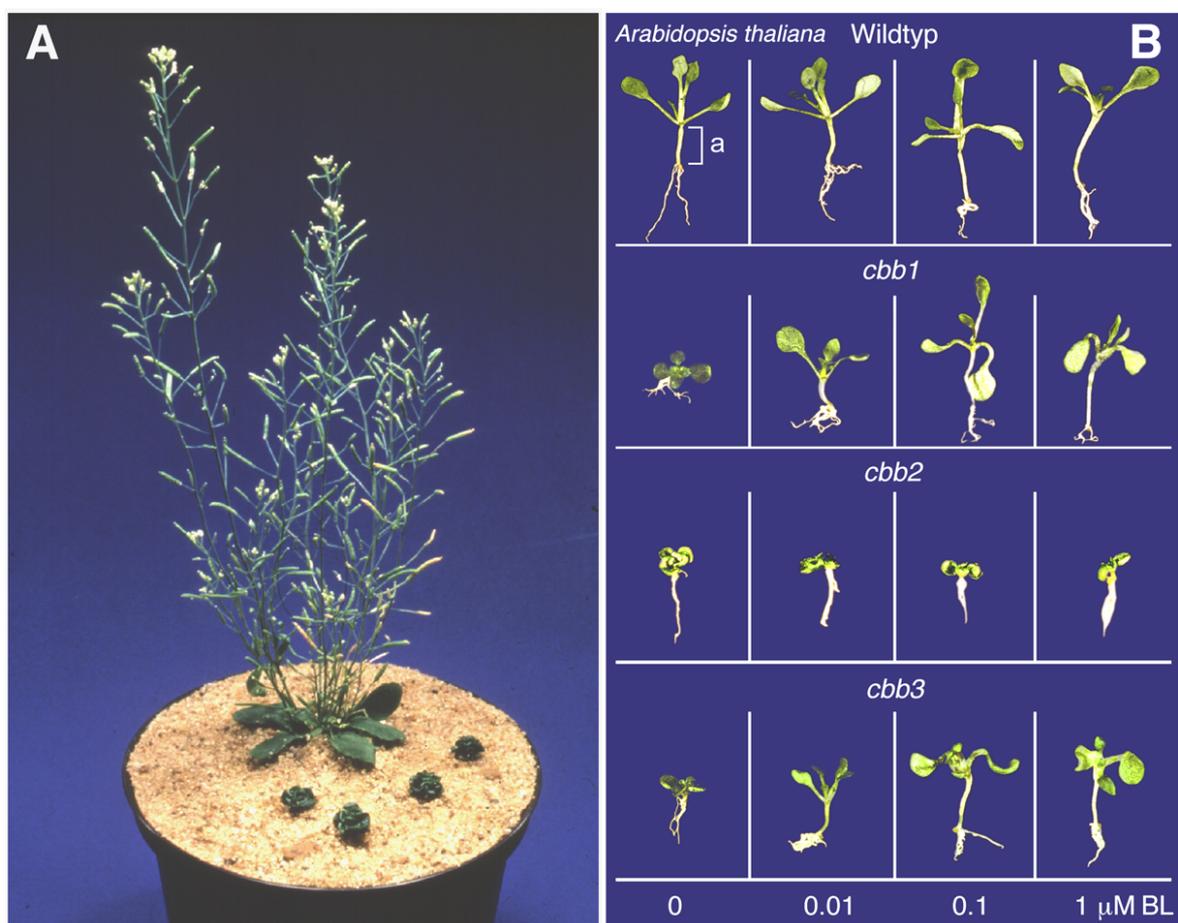
**Abbildung 1.** Reis-Lamina-Inklinationstest mit 24-Epicastasteron.

Der Reis-Lamina-Inklinationstest wird wie folgt durchgeführt [141,143]: Vom Reis (*Oryza sativa* L. cv. Koshihikari) werden Sämlinge sechs Tage lang in der Dunkelheit bei 27-30 °C auf einem Agar-Medium angezogen. Nach dem Abschneiden der etiolierten Keimpflanzen<sup>2</sup> 2 cm unter der Blattscheide werden die Segmente bei 27-30 °C im Dunkeln für 24 h flottiert. Anschließend werden jeweils 10 Segmente in 20 ml Lösung unterschiedlicher Konzentrationen (0.01 µmol/l; 0.1 µmol/l; 0.5 µmol/l) für 48 h im Dunkeln inkubiert. Danach wird der Inklinationswinkel zwischen Sproßverlängerung und Blatt gemessen. Die Abwinkelung wird durch die von Brassinosteroiden induzierte Schwellung der an der adaxialen Nodiumseite zwischen Blatt und Blattscheide lokalisierten Zellen verursacht. Die Inklinationswinkel können direkt oder nach Abzug der Kontrolle (unbehandelte Reissämlinge) mit strukturelevanten Brassinosteroiden (Standards) verglichen werden.

<sup>2</sup> Die Längenstreckung der Hypocotyle (Etiollement) wird durch Lichtmangel hervorgerufen. Außerdem wird kein Chlorophyll gebildet, so daß die Keimpflanzen fast farblos sind.

### 2.4.2. *Arabidopsis*-Mangelmutanten-Hypocotyllängentest (AraMH-Test)

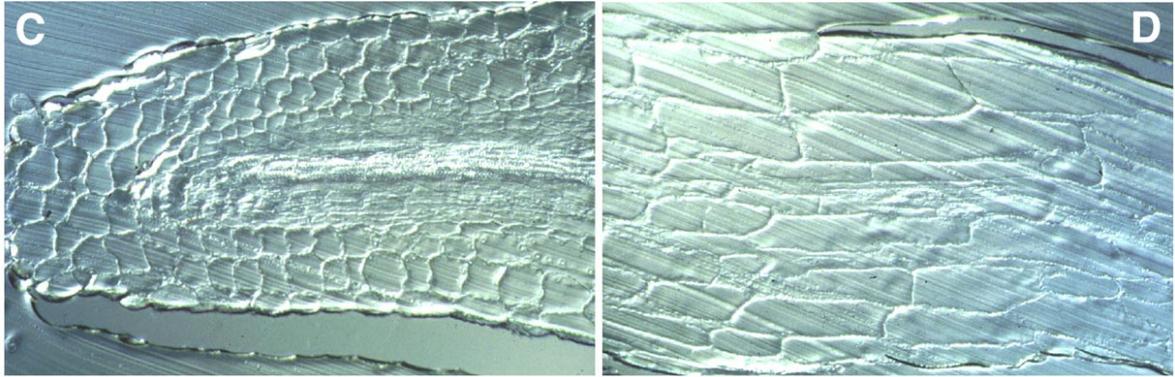
Die Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana*)<sup>3</sup>, auch Gänserauke genannt, ist ein für molekularbiologische Untersuchungen bevorzugtes Objekt [144], da sie sich gut im Labor ziehen läßt, eine Generationszeit von nur 5 Wochen aufweist und sich mit ca.  $10^4$  Samen pro Pflanze gut vermehrt. Außerdem kann man *Arabidopsis th.* selbst<sup>4</sup> und damit neue Mutationen homozygot machen [145]. Entscheidend für den Modellcharakter der Pflanze ist auch das relative kleine, bereits zu 40% sequenzierte Genom (5 Chromosomen,  $7 \times 10^7$  Basenpaare) mit sehr wenigen repetitiven Sequenzen. Weiterhin lassen sich neue Gene durch *Agrobacterium tumefaciens* bequem in das Genom der Pflanze stabil integrieren.



**Abbildung 2.** Morphologische Merkmale von *Arabidopsis th.* Wildtyp und den Mutanten *cbb1*, *cbb2*, *cbb3*. **A)** Die Mutante *cbb3* ohne (Vordergrund) und nach exogener Applikation von Brassinosteroiden (Hintergrund) [43]. **B)** Brassinolid (**18**) im AraMH-Test: Wildtyp, *cbb1*, *cbb2* (insensitiv), *cbb3* [146], (a = Hypocotyllänge).

<sup>3</sup> *Arabidopsis thaliana* [v. mlat. arabis = arab. Pflanze, Kresse, gr. opsis = Aussehen], ist ein einjähriges, bis 30 cm hohes Kraut aus der Gattung der Kreuzblütler mit grundständiger Blattrosette und kleinen, weißen Blüten. *Arabidopsis thaliana* ist die einzige in Mitteleuropa beheimatete Art.

<sup>4</sup> Selbstung, Bez. für die erzwungene Selbstbefruchtung bei Pflanzen mit Fremdbestäubung, hier um einheitliche Nachkommen mit identischem Erbgut zu erzeugen (homozygot = reinerbig).



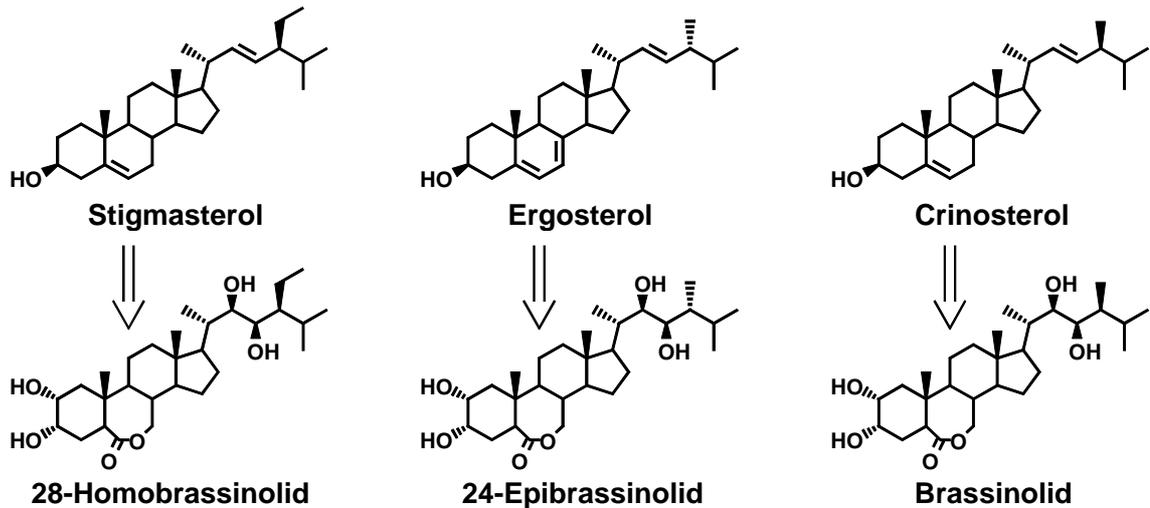
**Abbildung 3.** Längsschnitt von Hypocotylzellen der Mutante *cbb3*. **C)** ohne Br's, **D)** mit 0.5 µM 24-Epibrassinolid [43].

Durch ihre Zugehörigkeit zu den zweikeimblättrigen Pflanzen stellt *Arabidopsis th.* eine wertvolle Ergänzung zu dem bereits vorgestellten RLI-Test (einkeimblättrig) dar. Im AraMH-Test [43] werden ganze Pflanzen eingesetzt, die Aufnahme der Testsubstanzen erfolgt über die Wurzeln. Die in Methanol gelösten potentiellen Wirkstoffe werden daher vor dem Gießen in das noch flüssige, halbverdünnte Murashige/Skoog-Medium [147] eingearbeitet. Danach wird der sterilisierte Samen (70% EtOH/ 5%iges Natriumhypochlorid) mit einer 5%igen Agarose-Lösung in Suspension gebracht und gleichmäßig auf die vorbereiteten Petrischalen verteilt (ca. 10-15 Samen pro Petrischale). Anschließend werden die Petrischalen mit einem Deckel versehen und für 11 Tage in einer Klimakammer eingestellt. Nach dieser Zeit erfolgt die Messung der Hypocotyllängen unter einem Lichtmikroskop mit einem skalierten Okular. Ebenso wie beim RLI-Test werden die Ergebnisse mit den Werten von bioaktiven Brassinosteroiden verglichen.

## 2.5. Wege zur Synthese von Brassinosteroiden

Für die Synthese der am häufigsten vorkommenden Hormone Brassinolid (**18**) und Castasteron (**17**) wurden eine große Anzahl von Verfahren beschrieben [110-119]. Diese können in Einführung der typischen Strukturmerkmale im A/B-Ring des Steroidgerüsts und Seitenkettenaufbau unterteilt werden.

Praktisch alle Brassinosteroidsynthesen sind Partialsynthesen, wobei meistens für die Funktionalisierung des A/B-Ringsystems ein 3 $\beta$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -Steroid als Ausgangsstoff verwendet wird. Die Auswahl des Seitenkettenfragmentes wird durch das Vorhandensein einer  $\Delta^{22}$ -Doppelbindung und durch den Alkylierungsgrad der Position-24 bestimmt. So startet die Synthese von 28-Homobrassinolid von Stigmasterol (Schema 6), die von 24-Epibrassinolid von Ergosterol. Das für die Synthese von Brassinolid am besten geeignete Sterol ist deshalb Crinosterol (Dehydrocampesterol). Da Crinosterol nicht in den für die Synthese benötigten Mengen verfügbar ist, muß bei der Synthese von Brassinolid (**18**), von geeigneten Präkursoren ausgehend, die Seitenkette neu aufgebaut werden.

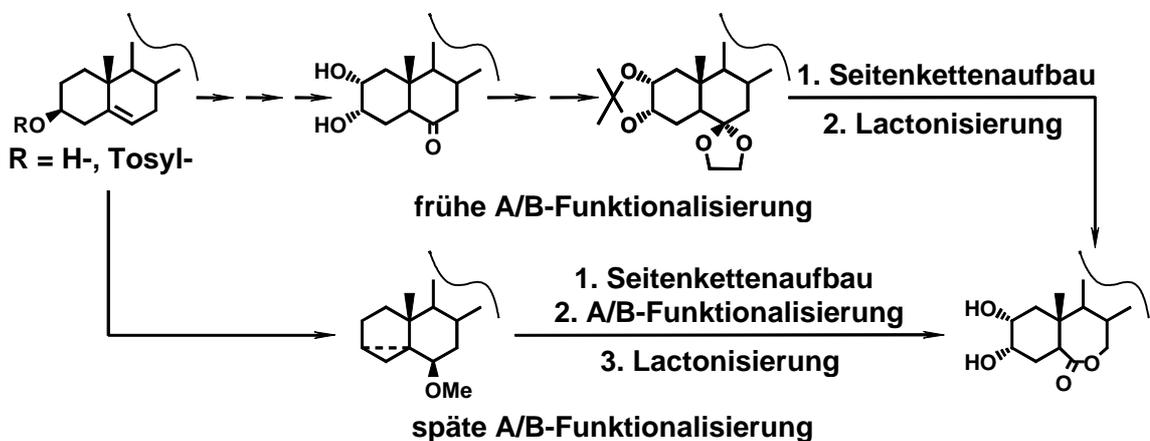


**Schema 6.** Geeignete Phytosterole für die Synthese von Brassinosteroiden.

### 2.5.1. Die Funktionalisierung des A/B-Ringsystems

Für die Funktionalisierung des A/B-Ringsystems ausgehend von  $3\beta$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -Steroidvorstufen werden hauptsächlich Verfahren eingesetzt, bei denen neben den Lactonen auch die entsprechenden 6-Ketone zugänglich sind. Diese 6-Ketone kommen ebenfalls nativ vor und können für biologische Untersuchungen eingesetzt werden.

Meistens wird der Weg über ein als 2,3-Acetonid-6-ketal geschütztes  $2\alpha,3\alpha$ -Dihydroxy-6-keton gewählt [8,21]. Im Anschluß daran wird der Seitenkettenaufbau durchgeführt, die Lactonisierung durch Baeyer-Villiger-Oxidation erfolgt am Ende des Syntheseweges (Schema 7). Diese Strategie wurde in der vorliegenden Arbeit angewendet, die ausführliche Beschreibung erfolgt im Kapitel 3.2.. In einer zweiten Strategie wird zunächst in zwei Synthesestufen die vorhandene  $3\beta$ -Hydroxygruppe als 3,5-Cyclosterol geschützt, dann die Seitenkette aufgebaut und zuletzt das A/B-Ringsystem funktionalisiert.



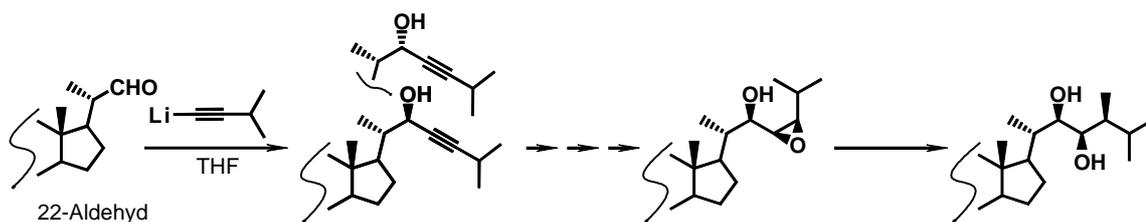
**Schema 7.** Funktionalisierung des A/B-Ringsystems.

### 2.5.2. Der Seitenkettenaufbau

Ohne eine vollständige Übersicht über die vielfältigen Methoden für den Seitenkettenaufbau anzustreben [21,115,148], sollen hier drei grundsätzliche Strategien, ausgehend von 22-Aldehyd-Vorstufen, vorgestellt werden. Geeignete 22-Aldehyde sind nach bekannten Verfahren durch Spaltung der  $\Delta^{22}$ -Doppelbindung mittels Ozonolyse zugänglich [149]. Die Strategien zum Seitenkettenaufbau lassen sich wie folgt charakterisieren:

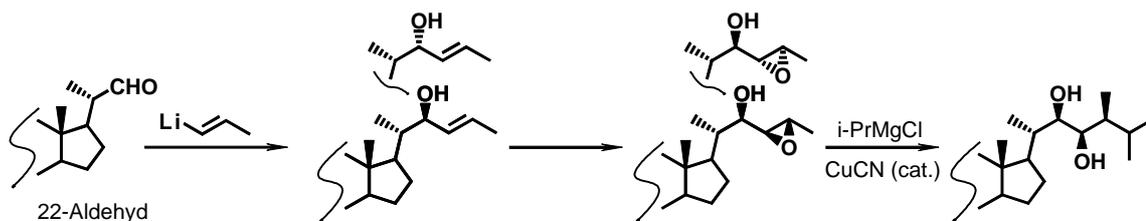
1. Verknüpfung eines aliphatischen Synthons mit dem 22-Aldehyd und anschließende Einführung der Stereozentren.
2. Verknüpfung eines aliphatischen Synthons mit dem 22-Aldehyd mit nachfolgender Kopplung eines weiteren aliphatischen Bausteins.
3. Verknüpfung eines cyclischen Synthons mit dem 22-Aldehyd, Funktionalisierung und anschließende Öffnung des cyclischen Systems zur aliphatischen Seitenkette.

Bei der ersten Strategie werden für die Kopplung mit dem 22-Aldehyd entweder Grignardverbindungen oder lithiierte Synthone mit einer Dreifachbindung [150-152] eingesetzt (Schema 8), wobei als Synthone substituierte Butine verwendet werden. Diese Reaktionen wurden bereits für die Darstellung von Ecdysonen beschrieben [153,154].



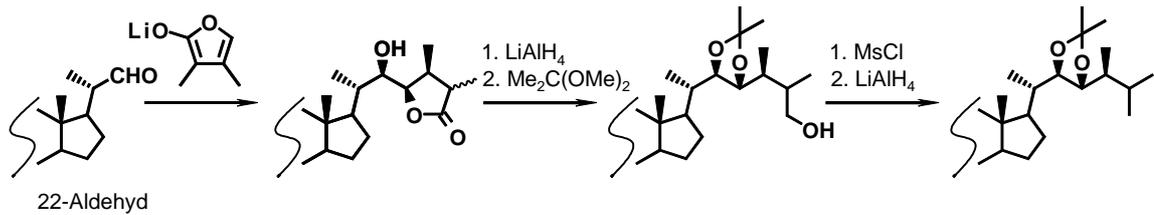
**Schema 8.** Seitenkettenaufbau mit einem aliphatischen Synthon.

Für die zweite Strategie soll eine Synthese als Beispiel dienen, in welcher zuerst ein (E)-Propenyllithium mit dem 22-Aldehyd verknüpft wird [155,156]. Nach Epoxidation des als Hauptisomer entstandenen (22*R*)-Alkohols wird als zweiter Baustein Isopropylmagnesiumchlorid verwendet, wobei über eine kinetische Separation mit katalytischen Mengen Kupfer(I)-cyanid nur das gewünschte *threo*-Epoxid umgesetzt und somit die Seitenkette von Brassinolid (**18**) erhalten wird (Schema 9).



**Schema 9.** Seitenkettenaufbau mit zwei aliphatischen Synthons.

Als cyclische Seitenkettensynthese für die dritte Strategie dienen entweder 2-Lithiofurane [157-160] oder Lithiumsalze von Lactonenolaten [161]. Diese Enolate werden in einer Cram-Addition an den 22-Aldehyd gekoppelt, wobei eine gleichzeitige stereoselektive Einführung der Stereozentren C-22 und C-23 mit den Lactonenolaten gelingt (Schema 10). Öffnung des Lactons mit  $\text{LiAlH}_4$ , Schutz der Diolfunktion in der Seitenkette als Acetonid und Eliminierung der durch die Lactonöffnung entstandenen zusätzlichen 26-Hydroxyfunktion liefert auch hier die gewünschte Seitenkettenstruktur.

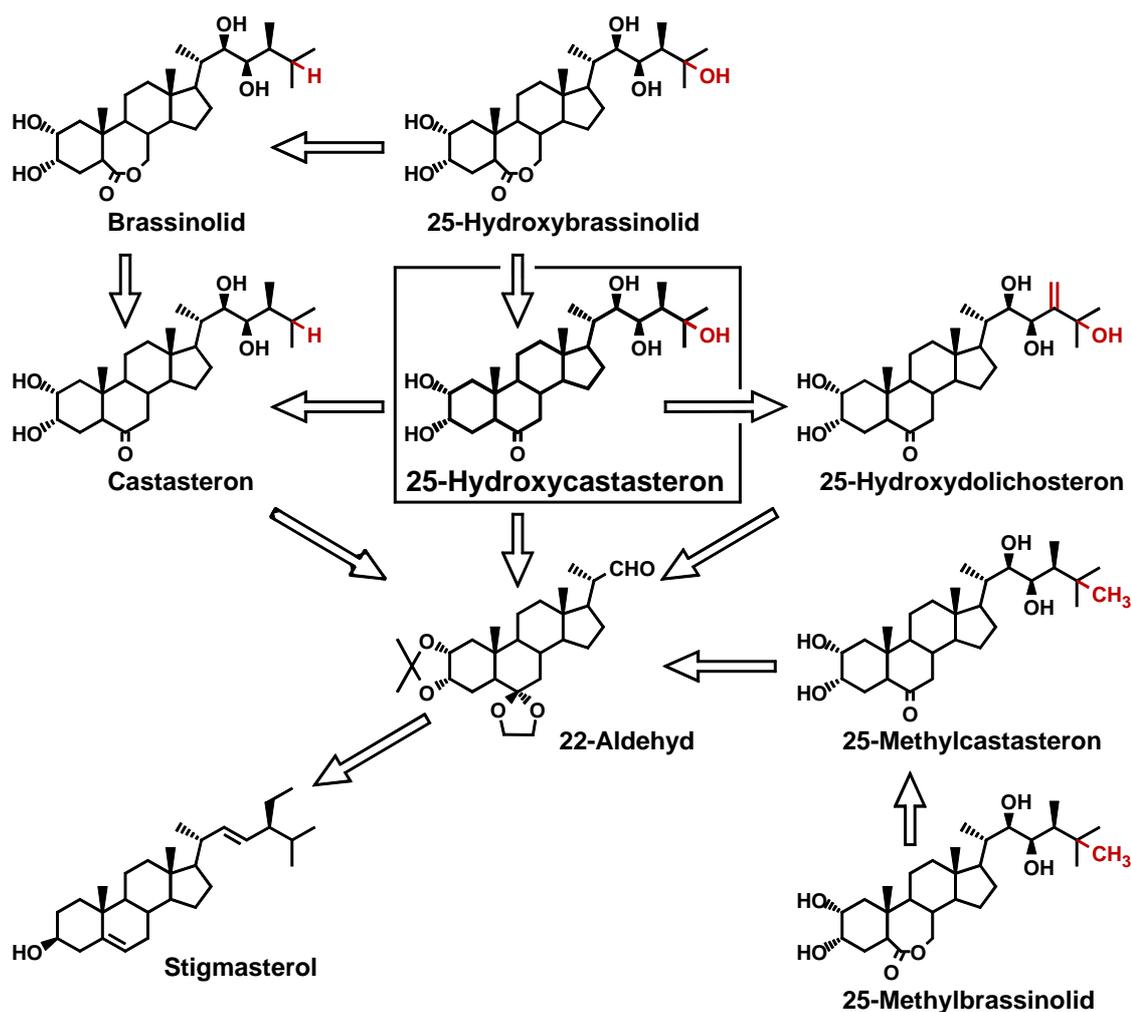


**Schema 10.** Seitenkettenaufbau mit einem cyclischen Synthon.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1. Zielverbindungen und Retrosynthese

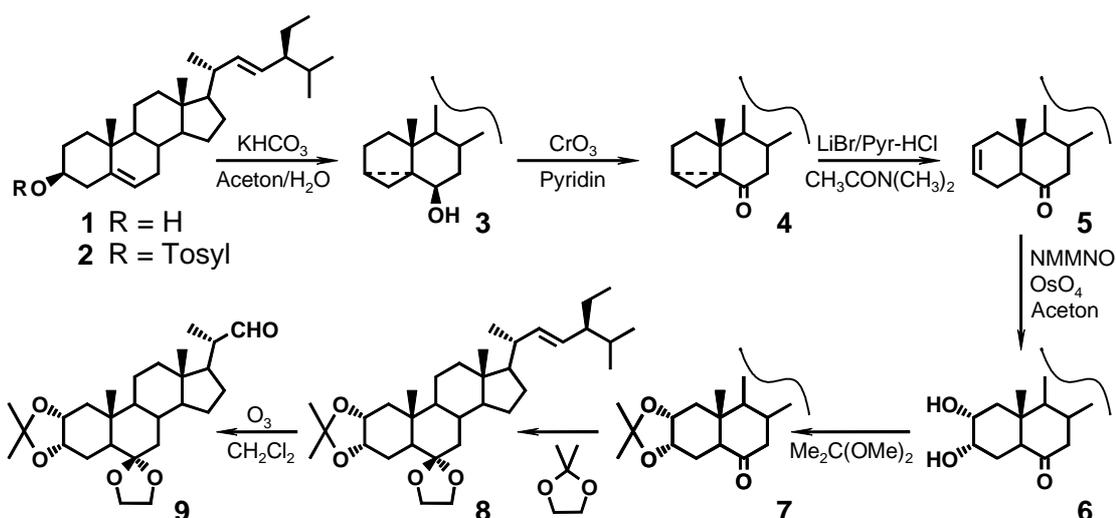
Die Zielverbindungen 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 25-Hydroxybrassinolid (**50**), 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**), sowie 25-Methylcastasteron (**57**) und 25-Methylbrassinolid (**58**) zeichnen sich durch einen höheren Funktionalisierungsgrad der 25-Position aus. Gegenüber Castasteron (**17**) und Brassinolid (**18**) wird in dieser Position eine zusätzliche Hydroxyfunktion bzw. Methylgruppe eingeführt. 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**) enthält zudem eine 24(28)-Methylengruppe. Diese Zielverbindungen werden mittels stereoselektivem Seitenkettenaufbau synthetisiert, dem die Kopplung geeigneter Seitenkettensynthone an einen entsprechend vorbereiteten steroidal Grundbaustein vorausgeht. Dieser als 22-Aldehyd **9** bezeichnete Grundbaustein (20*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-20-formyl-5 $\alpha$ -pregnan, wird durch Ozonolyse aus einem geeigneten Sterol mit  $\Delta^{22}$ -Doppelbindung erzeugt. Zuvor werden die mit Schutzgruppen versehenen, Brassinosteroid-typischen Funktionen in das A/B-Ringsystem eingeführt (Schema 11).



Schema 11. Retrosynthese der Zielverbindungen.

### 3.2. Synthese des 22-Aldehydes

Die Synthese des 22-Aldehydes **9** erfolgt, ausgehend von Stigmasterol (**1**), durch eine achtstufige Synthese nach bekanntem Verfahren (Schema 12) [150,152]. Im ersten Schritt wird Stigmasterol (**1**) mit *p*-TsOCl in Pyridin umgesetzt [162]. Bei dieser S<sub>N</sub>2-Reaktion wird das Tosylat **2** quantitativ erhalten. Bei der anschließenden Solvolyse von **2** mit KHCO<sub>3</sub> in Aceton/Wasser wird eine Bindung zwischen C-3 und C-5 zum Cyclopropanring geschlossen, wobei *iso*-Steroid **3** gebildet wird [163].



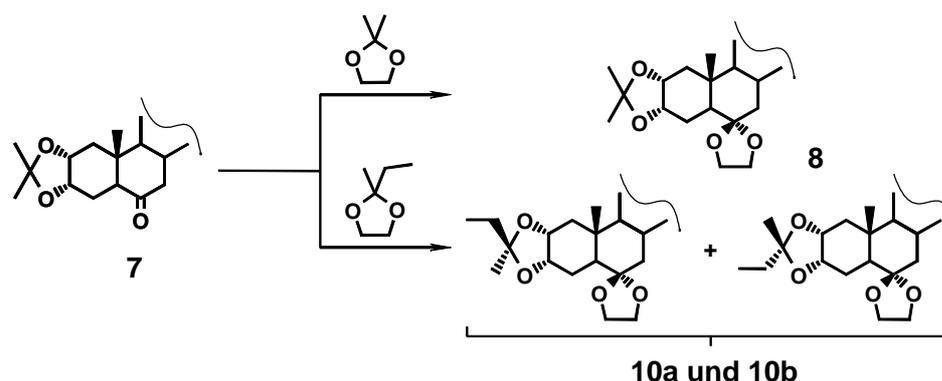
**Schema 12.** Synthese des 22-Aldehydes **9**.

Die Oxidation von *iso*-Steroid **3** zum Keton **4** erfolgt mit Chrom(VI)-oxid in Pyridin [164]. Die anschließende Isomerisierung des 3 $\alpha$ ,5-Cyclo- $\Delta^{22}$ -6-ketons **4** zum  $\Delta^{2,22}$ -6-Keton **5** kann nach verschiedenen Verfahren erfolgen [8]. Eine Methode verwendet zur Öffnung des Cyclopropanringes wasserfreies Lithiumbromid und Pyridiniumhydrochlorid in N,N-Dimethylacetamid [165] und liefert **5** in 81%-iger Ausbeute.

Als nächster Schritt erfolgt die *cis*-Dihydroxylierung der  $\Delta^2$ -Doppelbindung von **5** mit Osmiumtetroxid und N-Methyl-morpholin-N-oxid [166,167]. Während die Dihydroxylierung im A-Ring nach ca. 5 h abgeschlossen ist, werden für die vollständige Dihydroxylierung der  $\Delta^{22}$ -Doppelbindung mehrere Tage benötigt. Bei der Reaktion von **5** reagieren katalytische Mengen Osmiumtetroxid mit der  $\pi$ -Bindung in konzertierter Addition, während der sich drei Elektronenpaare simultan verschieben. Dadurch entsteht ein cyclischer Ester, wobei durch den elektrophilen Angriff an das Alken formal zwei Elektronen vom Alken auf das Metall übertragen werden. Der Angriff von Osmiumtetroxid erfolgt bevorzugt von der  $\alpha$ -Seite der  $\Delta^2$ -Doppelbindung [168], da die  $\beta$ -Seite durch die angulare Methylgruppe C-19 abgeschirmt ist. Der Ester wird dann durch stöchiometrische Mengen NMMNO oxidiert und Osmiumtetroxid gelangt wieder in den katalytischen Cyclus. Nach der Hydrolyse mit Natriumhydrogensulfidlösung wird **6** freigesetzt. Das Epimeren-

Verhältnis von  $2\alpha,3\alpha$  :  $2\beta,3\beta$  = 9:1 [169,170] wurde mit GC-MS bestimmt. Werden die äquatorialen  $2\alpha$ - bzw.  $3\beta$ -Hydroxygruppen mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid derivatisiert, so kann die Trennung der beiden Epimere durch Chromatographie an Kieselgel erfolgen (vgl. 3.9.1.) [139].

Nach erfolgter Funktionalisierung im A/B-Ringsystem werden die  $2\alpha,3\alpha$ -Diol- und die 6-Ketofunktion für die weitere Synthese geschützt. Hierzu wird zunächst die Diolgruppe von **6** mit 2,2-Dimethoxypropan und *p*-TsOH in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  in das Acetonid **7** überführt. Die direkte Ketalisierung von **7** an C-6 mit Ethylenglykol gelingt nicht, so daß hier die Methode der Austausch-Ketalisierung [171] angewendet wird. Bei der Umsetzung mit 2-Ethyl-2-methyl-1,3-dioxolan werden die zwei Diastereomere **10a** und **10b** im Verhältnis von 1:1 erhalten (Schema 13) [152]. Diese enthalten eine zusätzliche Methylengruppe und entstehen beim Austausch der Acetonidschutzgruppe (Isopropyl) gegen das Ketalisierungs-Nebenprodukt (Ethylmethylketon). Wird jedoch bei der Reaktion 2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan verwendet [152], so entsteht nur eine Verbindung, da das bei diesem Reagenz als Nebenprodukt entstehende Aceton bei einem Austausch ebenfalls zur Acetonidschutzgruppe von **8** führt (Schema 12).



**Schema 13.** Umsetzung von **7** mit 2,2-Dimethyldioxiran und 2,2-Ethylmethyldioxiran.

Der Vergleich der (in der Literatur nur unvollständig beschriebenen) NMR-Daten von **8**, **10a** und **10b** zeigt, daß signifikante Unterschiede nur in der Schutzgruppe auftreten (Tabelle 1). Die Konfiguration am neugebildeten Asymmetriezentrum der Acetalschutzgruppe konnte nicht bestimmt werden. Die Molekülionen von **10a** und **10b** ( $m/z$  542) sind im Vergleich zu Verbindung **8** ( $m/z$  528) durch die zusätzliche Methylengruppe um 14 Masseinheiten verschoben. Bei allen drei Verbindungen tritt Methylabspaltung  $[\text{M}-15]^+$  auf. Für **10a** und **10b** wird als Basispeak eine Ethylabspaltung aus dem Acetonid bei  $m/z$  513  $[\text{M}-29]^+$  beobachtet. Ebenfalls charakteristisch ist für alle drei Verbindungen die B/C-Ringspaltung bei  $m/z$  317 ( $[\text{M}-211]^+$ , für **8** = 100%)(vgl. 3.4.1./3.5.3.). Weiterhin unterscheiden sich auch die aus der B-Ringspaltung resultierenden Fragmente für **8** ( $m/z$  239) von **10a** und **10b** ( $m/z$  253) um 14 Masseinheiten.

	<b>8</b>		<b>10a</b>		<b>10b</b>	
	<sup>1</sup> H NMR δ, J (Hz)	<sup>13</sup> C δ	<sup>1</sup> H NMR δ, J (Hz)	<sup>13</sup> C δ	<sup>1</sup> H NMR δ, J (Hz)	<sup>13</sup> C δ
1	1.927 dd (12.8/7.0) 1.05	42.72	1.94/1.07	42.91	1.920 dd (12.7/6.9) 1.03	42.87
2	4.100 m	72.97	4.102 m	72.89	4.106 m	72.56
3	4.272 m	72.86	4.242 m	72.89	4.300 m	72.42
4	2.15/1.80	21.97	2.157 d (11.0) 1.78	22.07	2.160 d (12.4) 1.80	22.05
5	1.80	45.51	1.799 s	45.55	1.787 s	45.63
19	0.837 s	13.36	0.833 s	13.39	0.832 s	13.45
Isopr. 1	-	107.55	-	109.69	-	109.50
Isopr. 2	1.476 s	28.60	1.415	25.41	1.274 s	23.34
Isopr. 3	1.328 s	26.56	1.254	9.03	0.981 t (7.6)	9.14
Iso.-CH <sub>2</sub>	-	-	1.59/1.59	32.56	1.70/1.70	34.60

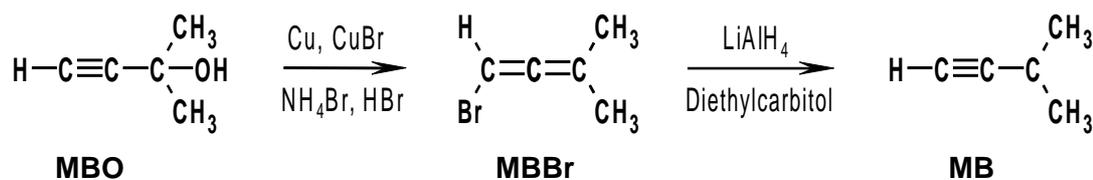
**Tabelle 1.** NMR-Verschiebungen der Verbindungen **8**, **10a** und **10b**.

Verbindung **8** wird durch Ozonolyse der  $\Delta^{22}$ -Doppelbindung und reduktiver Spaltung des Ozonides mit Dimethylsulfid in den 22-Aldehyd **9** überführt [149]. Die unerwünschte Isomerisierung an C-20 wird durch Zugabe von wenig Pyridin und NaHCO<sub>3</sub> verhindert [172]. Da **8** nach vollständigem Umsatz weiter zur 22-Carbonsäure oxidiert, wird die optimale Reaktionszeit experimentell bestimmt. Das beste Ergebnis mit 91% Ausbeute wird erhalten, wenn in eine Lösung aus 6 g (11.3 mmol) **8** und 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (plus 4 ml Pyridin und 6 g NaHCO<sub>3</sub>) bei -50°C für 20 min ein O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>-Gemisch eingeleitet wird (Sander-Laborozonisorator 301.7; 50 l/h; 0.5 A Stromaufnahme; ca. 1.8 g O<sub>3</sub>/h = 12.5 mmol O<sub>3</sub> in 20 min). Nach der achtstufigen Synthese wird der 22-Aldehyd **9**, ausgehend von Stigmasterol (**1**), mit 33% Gesamtausbeute erhalten.

### 3.3. Synthese von Castasteron und Brassinolid

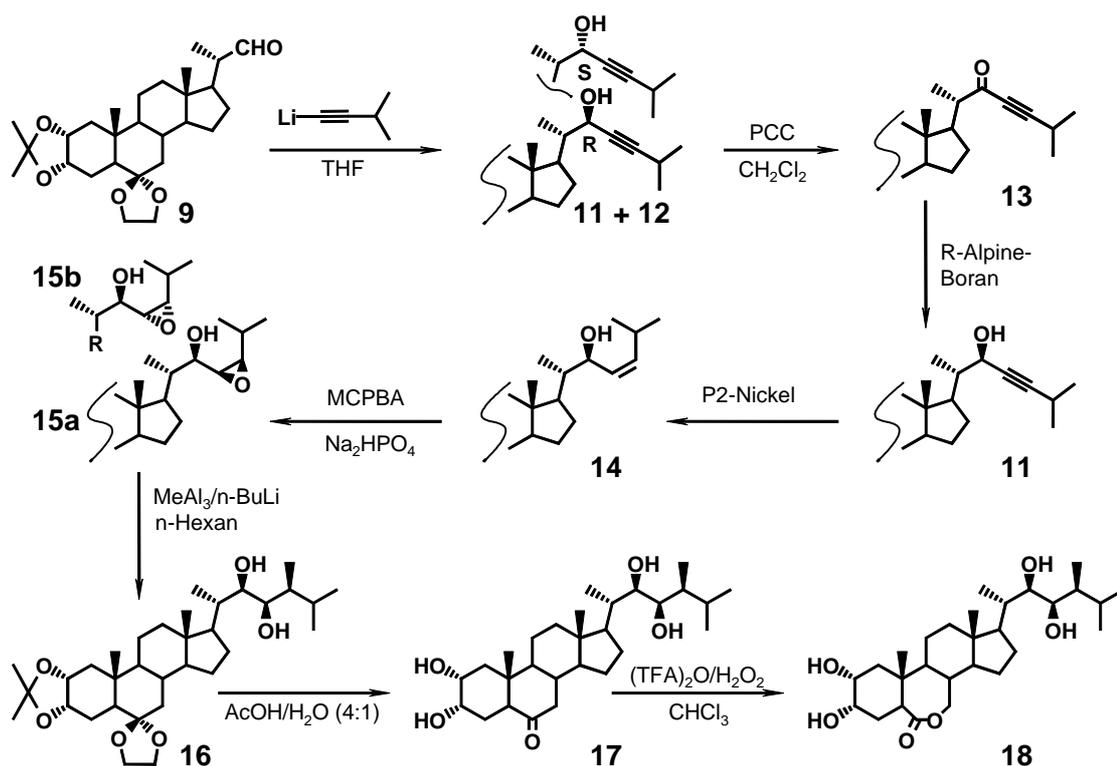
Für die Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 25-Hydroxybrassinolid (**50**) durch direkte Oxyfunktionalisierung werden Castasteron (**17**) und Brassinolid (**18**) als Ausgangsstoffe benötigt. Außerdem sollen **17** und **18** als Referenzsubstanzen für den Biotest eingesetzt werden. Diese Verbindungen werden nach bekanntem Verfahren hergestellt [151,152].

Als Seitenkettensynthon für die Synthese von Brassinolid (**18**) wird 3-Methyl-but-1-in (**MB**) verwendet. Dargestellt werden kann **MB** [173,174] aus 2-Methyl-but-3-in-2-ol (**MBO**) in zwei Stufen. Durch Umlagerung von **MBO** unter gleichzeitiger Eliminierung der Hydroxyfunktion wird 1-Brom-3-methyl-buta-1,2-dien (**MBBr**) erhalten [175]. Nach der Destillation wird **MBBr** sofort weiterverarbeitet, da es bereits innerhalb von 48 h merklich polymerisiert. Das Bromallen **MBBr** wird anschließend mit LiAlH<sub>4</sub> reduktiv zum gewünschten **MB** umgesetzt (Schema 14) [176].



**Schema 14.** Synthese von 3-Methyl-but-1-in (**MB**).

Vor der Verknüpfung mit dem 22-Aldehyd **9** wird **MB** zunächst metalliert. Dieses kann sowohl durch Bildung einer Grignard-Verbindung [177] oder, wie hier verwendet, durch Lithierung erfolgen. Bei der anschließenden Kopplung entstehen die zwei diastereomeren 22-Alkohole **11** und **12** im Verhältnis von 1:1 (Schema 15) [111,151,152]. Zur Erhöhung der Ausbeute an (22*R*)-Alkohol **11** wird das Gemisch der 22-Alkohole **11**+**12** mit PCC [178] zum 22-Keton **13** oxidiert und danach mit R-Alpine-Boran als chiraalem Reagenz selektiv reduziert. Dabei wird nur der gewünschte (22*R*)-Alkohol **11** gebildet [179]. Die Verbindungen **11** und **12** konnten durch präparative HPLC getrennt und anschließend charakterisiert werden, daß Retentionsverhalten der Verbindungen **11**, **12** und **13** wird im Abschnitt 3.8. diskutiert.



**Schema 15.** Die Synthese von Brassinolid (**18**).

Bei der nachfolgenden partiellen *cis*-Hydrierung des Propargylalkohols **11** liefert der aus einer 1M ethanolischen NaBH<sub>4</sub>-Lösung sowie Ni(OAc)<sub>2</sub> x 4 H<sub>2</sub>O hergestellte und mit Ethylendiamin partiell vergiftete P2-Nickel Katalysator [180] den gewünschten Allylalkohol **14** mit 95% Ausbeute. Zur Aufarbeitung wird **14** nach Zusatz von EtOAc zur Reaktionslö-

sung filtriert und so die Hauptmenge des Katalysators abgetrennt. Noch vorhandene Reste des Katalysators müssen durch Chromatographie an Kieselgel gründlich entfernt werden. Die anschließende Epoxidation der  $\Delta^{23(24)}$ -Doppelbindung von **14** wird mit MCPBA durchgeführt. Um einen hohen Anteil an gewünschtem (23*S*,24*R*)-Epoxid **15a** zu erhalten, wird die Reaktion bei 5°C und mit wasserfreiem Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> als Puffer durchgeführt. In einem Fall wurden geringe Mengen des bisher nicht beschriebenen (23*R*,24*S*)-Epoxides **15b** isoliert und charakterisiert.

Im entscheidenden Reaktionsschritt dieser Synthese wird der Epoxidring in Verbindung **15a** unter gleichzeitiger Methylierung an C-24 mit Trimethylaluminium und *n*-BuLi als Katalysator zu **16** geöffnet (Schema 15). Die alkylierende Epoxidöffnung verläuft wahrscheinlich über einen Komplex aus Epoxid und zwei Äquivalenten Trimethylaluminium. Während die Addition des ersten Äquivalentes an den Epoxidsauerstoff schnell stattfindet, erfolgt die Koordination eines zweiten Äquivalentes an das bereits vorhandene Trimethylaluminium langsam. Als geschwindigkeitsbestimmend wird die Epoxidöffnung angesehen, die anschließende Alkylierung läuft schnell und unter Inversion ab [181,182]. Durch die Reaktion mit Trimethylaluminium erfolgt die regioselektive Öffnung des (22*R*)-Hydroxy-(23*S*,24*R*)-epoxides ausschließlich zum gewünschten (22*R*,23*R*)-Diol. Gleichzeitig wird die 28-Methylgruppe stereoselektiv mit (24*S*)-Konfiguration zu **16** eingeführt [183,184]. Als Lösungsmittel für diese Reaktion sind Kohlenwasserstoffe wie *n*-Hexan gut geeignet. Dagegen kann THF nicht verwendet werden, da es Trimethylaluminium komplexiert. Von Nachteil ist die trotz der Schutzgruppen geringe Löslichkeit von **15a** in *n*-Hexan. Deshalb ist ein Zusatz von Cyclohexan erforderlich. Zur Optimierung der Löslichkeit wurden in der Literatur unterschiedliche Angaben gemacht [151,152,185].

Durch Abspaltung der Schutzgruppen von **16** mit warmer 80%-iger Essigsäure wird das nativ vorkommende Castasteron (**17**) erhalten. Im letzten Schritt dieses Syntheseweges erfolgt die Lactonisierung des B-Ringes durch Baeyer-Villiger-Oxidation [8]. Cyclische Ketone werden dabei unter Wanderung einer Alkylgruppe in cyclische Ester umgewandelt. Es ist wahrscheinlich, daß die wandernde Gruppe Carbeniumion-Charakter besitzt. Bei unsymmetrischen Ketonen wie **17** ist prinzipiell die Bildung von zwei regioisomeren Lactonen möglich, wobei das Verhältnis von den Substituenten im A-Ring abhängt. Es konnte gezeigt werden, daß bei einer Alkylsubstitution in 3-Position (R = H o. Me) hauptsächlich das 5a-oxa-6-oxo-Lacton entsteht [186,187]. Bei Verbindungen wie **17** wird durch die elektronenziehende Wirkung der Hydroxygruppen in 2/3-Position das gewünschte 6-oxo-6a-oxa-Lacton **18** als Hauptprodukt und das 5a-oxa-6-oxo-Lacton **19** (Isolacton) als Nebenprodukt gebildet (**18:19** = 9:1).

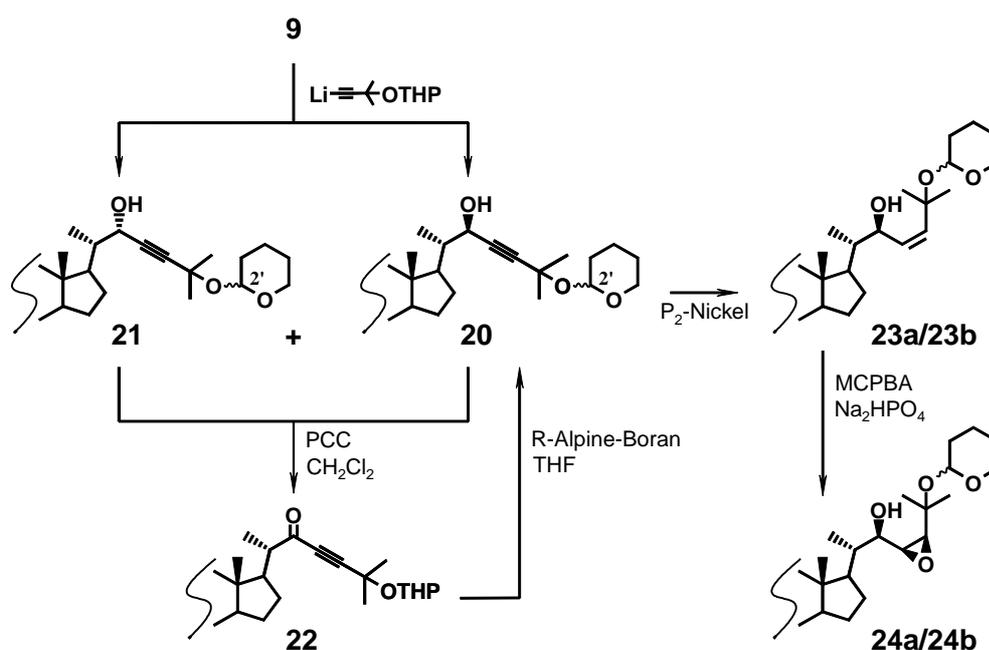
Die Verbindungen **17** und **18** wurden durch Vergleich mit den physikalischen Daten aus der Literatur charakterisiert. Insgesamt wurde nach diesem Verfahren, ausgehend von Stigmasterol (**1**), über 16 Stufen eine Gesamtausbeute von 5% Brassinolid (**18**) erzielt.

### 3.4. Synthese von 25-Hydroxycastasteron

#### 3.4.1. Seitenkettenaufbau mit 3-(Tetrahydropyran-2'-yloxy)-3-methyl-but-1-in

Für die Synthese der 25-hydroxylierten Vertreter werden der 22-Aldehyd **9** und das entsprechende Seitenkettensynthons **MBO** als Ausgangsstoffe eingesetzt. Zuerst muß die Hydroxyfunktion des Seitenkettensynthons geschützt werden. Der Schutz der tertiären Hydroxyfunktion als Tetrahydropyranylether bietet die Möglichkeit, in Analogie zu den Schutzgruppen des 22-Aldehydes **9** eine ebenfalls sauer spaltbare Schutzgruppe einzuführen. Gleichzeitig erlaubt der THP-Ether eine notwendige Behandlung mit kalten, verdünnten Säuren bei der Aufarbeitung und das Chromatographieren an Kieselgel ohne basische Zusätze. Bei der Darstellung des THP-Ethers entsteht ein neues Asymmetriezentrum in C-2' Position, 3-(Tetrahydropyran-2'-yloxy)-3-methyl-but-1-in (**MBOT**) wird somit als Racemat erhalten.

Die Kopplung von 22-Aldehyd **9** mit dem Lithiumsalz von **MBOT** erfolgt analog wie für **MB** beschrieben (vgl. 3.3.). Die Reaktion liefert ein 1:1 Gemisch der (22*R*)- und (22*S*)-hydroxylierten Diastereomere **20** und **21**, die durch HPLC getrennt werden können (zum Retentionsverhalten von **20** und **21** vgl. 3.8.) (Schema 16). Bisher wurde nur das Gemisch der Diastereomere beschrieben [188]. Zur Erhöhung der Ausbeute an gewünschtem (22*R*)-Alkohol **20** wird das erhaltene Gemisch **20+21** mit PCC [179] in das 22-Keton **22** überführt. Die Reaktionszeit liegt für einen vollständigen Umsatz bei 20 h. Das nach Chromatographie an Kieselgel (Gradient Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30) erhaltene **22** wird in einer asymmetrischen Reduktion mit dem chiralen R-Alpine-Boran [179] umgesetzt. Diese Reaktion liefert stereoselektiv den (22*R*)-Alkohol **20**.



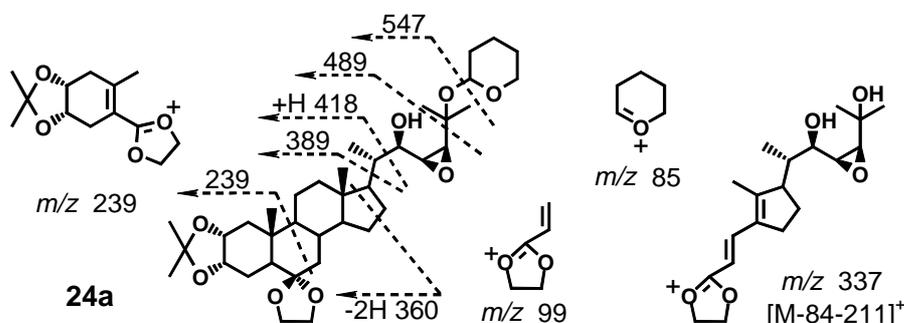
**Schema 16.** Seitenkettenaufbau mit einem 25-OTHP-Ether.

Während die Massenspektren der 22-Alkohole **20** und **21**  $m/z$  614 ( $M^+$ ) nahezu identisch sind, zeigt das 22-Keton **22** ein Molekölion bei  $m/z$  612. Diese Verschiebung von zwei Masseinheiten tritt auch bei dem Ion vom Typ  $[M-211]^+$  (Basispeak, **20**, **21**:  $m/z$  303; **22**:  $m/z$  301) auf, was auf eine Carbonylfunktion in der Seitenkette hinweist. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR unterscheidet sich die Verschiebung von C-22 bei den Alkoholen **20** und **21** ( $\delta = 65.4$ ) deutlich vom Keton **22** ( $\delta = 191.6$ ). Signifikante Unterschiede sind auch für C-23 meßbar (**20**:  $\delta = 85.0$ , **21**:  $\delta = 82.4$  und **22**:  $\delta = 81.7$ ).

Für die anschließende partielle Hydrierung der C-23/24-Dreifachbindung von **20** erwies sich der Lindlar-Katalysator [189,190] als nicht geeignet. Deshalb wurde auch hier mit P2-Nickel als Katalysator gearbeitet [152]. Dabei wurden zwei, durch Chromatographie an Kieselgel trennbare Verbindungen **23a** und **23b** mit identischen Massenspektren erhalten. Die für **23b** gefundene vicinale Kopplungskonstante H-23/H-24 von  $J = 12.2$  Hz, läßt die Z-Konfiguration der Doppelbindung erkennen. Für das polarere **23a** fallen die Verschiebungen für H-23/H-24 in  $\text{CDCl}_3$ -Lösung zusammen und lassen daher die Bestimmung der Kopplungskonstanten nicht zu.

Wird **23a** jedoch in  $\text{C}_6\text{D}_6$  gemessen [H-23 ( $\delta$  5.52, dd, 12.5/6.1 Hz), H-24 ( $\delta$  5.36, dd, 12.5/1.4 Hz)], so kann diesen Spektren eine Kopplungskonstante von  $J = 12.5$  Hz entnommen werden, woraus Z-Konfiguration der C-23/C-24 Doppelbindung auch für **23a** folgt. Der Unterschied zwischen **23a** und **23b** besteht daher in der Konfiguration von C-2', was ebenfalls anhand kleiner Differenzen von  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signalen im Bereich der Seitenkette reflektiert wird ( $\Delta\delta$  kleiner als 0.1). Eine Zuordnung der Konfiguration an C-2' aus den NMR-Daten ist nicht möglich.

Nach der Reinigung von **23b** und **23a** wurden diese Verbindungen einzeln mit MCPBA und wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  als Puffer bei  $5^\circ\text{C}$  epoxidiert [152], wobei fast ausschließlich die (23*S*,24*R*)-Epoxide [152,191] **24a** und **24b** erhalten werden. Der Vergleich von **24a** und **24b** zeigt, daß beide Produkte neben sehr ähnlichen Massenspektren identische  $R_f$ -Werte und Retentionszeiten in der HPLC aufweisen. Verschieden hingegen sind die chemischen Verschiebungen der Seitenkettenatome in den  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren.



Weitere Fragmente:  $m/z$  632  $M^+$ , 617  $[M-\text{Me}]^+$ , 548  $[M-84]^+$ , 533  $[(M-84)-\text{Me}]^+$ .

**Abbildung 4.** EI-MS-Fragmentierung von **24a**.

Für alle Verbindungen mit einer Acetonidschutzgruppe in 2/3-Position und einem Ketal in 6-Position wurden markante Fragmentierungen im EI-MS gefunden, die sich gut zur Charakterisierung eignen (Abbildung 4 und 5)(vgl. 3.2. u. 3.5.3./Abb. 9).

Diese massenspektrometrischen Fragmentierungen sollen am Beispiel der im A/B-Ring geschützten Verbindung **24a** diskutiert werden. Neben einem schwach ausgeprägten Molpeak wird Methylabspaltung  $[M-15]^+$  beobachtet. Befindet sich keine Schutzgruppe in der Seitenkette wie z.B. bei den Intermediaten **11-16** der Brassinolidsynthese, so tritt als Basispeak das aus der B/C-Ringspaltung resultierende Ion  $[M-211]^+$  auf. Im Fall von **24a** ist die 25-Position als THP-Ether geschützt. Diese leicht abspaltbare Gruppe bewirkt, daß das Fragment bei  $m/z$  548  $[M-84]^+$  entsteht und der Basispeak eine Masse von  $m/z$  85 aufweist (Abbildung 4 und 5). Dementsprechend tritt auch ein Ion vom Typ  $[(M-84)-211]^+$  ( $m/z$  337) auf. Weitere Fragmente ( $m/z$  239,  $m/z$  99) charakterisieren die Position der Schutzgruppen am A/B-Ringsystem.

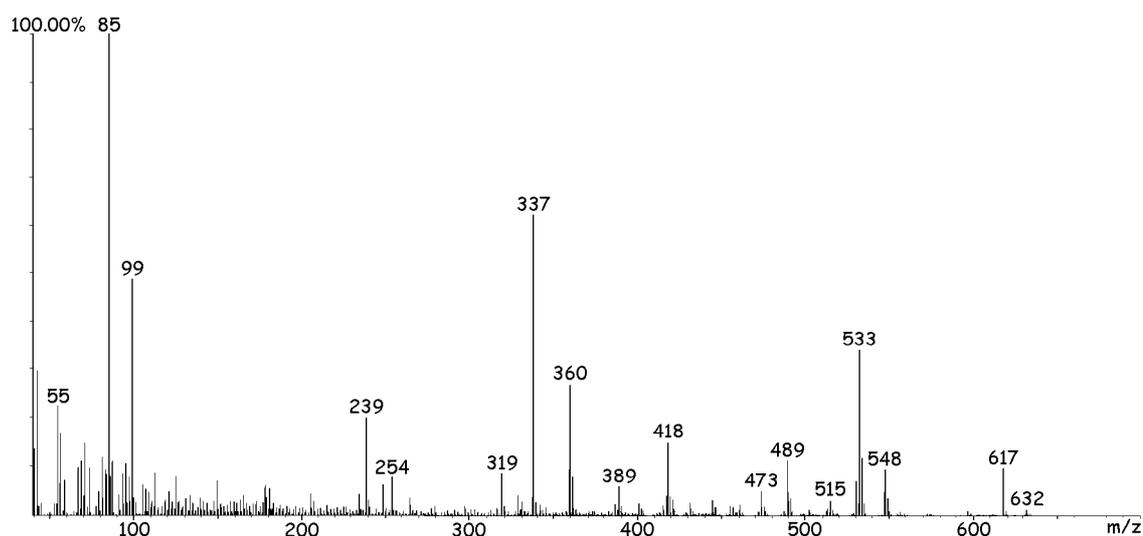
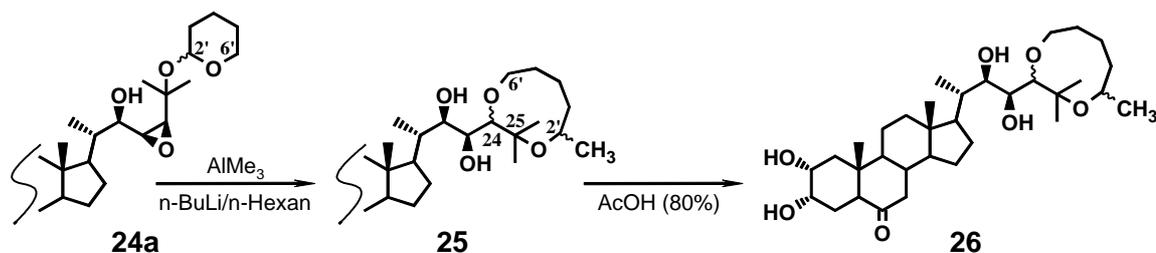


Abbildung 5. Massenspektrum von **24a**.

### 3.4.2. Synthese des Castasteron-Derivates mit annelierter Dioxonan-Seitenkette

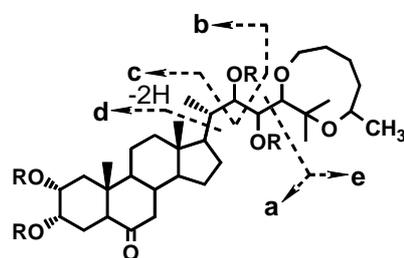
Bei der anschließenden Reaktion [152] von **24a** mit Trimethylaluminium und *n*-BuLi in Cyclohexan/*n*-Hexan bei  $-78^{\circ}\text{C}$  sollte Öffnung des Epoxidringes unter gleichzeitiger Methylierung, vorzugsweise an C-24, erfolgen. Statt dessen wird eine unerwartete Epoxidöffnung mit alkylierender Umlagerung unter Einbeziehung des Tetrahydropyranringes beobachtet (Schema 17) [192]. Die als Hauptprodukt entstandene Verbindung **25** mit einer Molmasse  $m/z$  648 ( $M^+$ ) enthält in der Seitenkette ein anneliertes neungliedriges Ringsystem als neuartiges Strukturmerkmal.



**Schema 17.** Synthese des Castasteron-Derivates **26**.

Unter denselben Bedingungen liefert die Umsetzung des anderen C-2'-Epimers **24b** nicht das Dioxonan **25**, sondern ein komplexes Gemisch von Substanzen mit Seitenkettenspaltungen. Diese Ergebnisse sind ein Hinweis darauf, daß die Bildung des Dioxonans **25** durch die C-2'-Konfiguration des Tetrahydropyranylethers kontrolliert wird.

Nach Abspaltung der Schutzgruppen von **25** wird das freie Castasteron-Dioxonan-Derivat **26** erhalten, das nach der systematischen Nomenklatur als (22*R*,23*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24,25-hexane-1,5-diyldioxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on bezeichnet wird. Das Molgewicht von **26** folgt aus ESI-MS mit positiver und negativer Ionisierung ( $m/z$  565  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z$  623  $[\text{M}+\text{OAc}]^-$ ). Die EI-MS-Fragmente des entsprechenden Trimethylsilylethers **26a** entstehen durch die  $\alpha$ -Spaltung zwischen C-23/C-24 mit den komplementären Ionen **a** ( $m/z$  681) und **e** ( $m/z$  171), sowie durch C-22/C-23-Spaltung mit dem Ion **b** ( $m/z$  579) (Abbildung 6). Die Struktur von **26** wird auch durch das EI-MS-Molekülion  $\text{M}^+$ ,  $m/z$  612 des Bismethylboronates **26b** bewiesen. Weitere Ionen liegen bei:  $m/z$  441 (**a**), 357 (**c**) und 327 (**d**).



**26:** R=H    **26a:** R=TMSi    **26b:** R,R=B(CH<sub>3</sub>)

**Abbildung 6.** Massenspektrometrische Fragmentierung von **26** und seinen Derivaten.

Aus ein- und zweidimensionalen NMR-Experimenten (einschließlich DQFCOSY, HSQC und HMBC) resultiert die eindeutige Zuordnung aller  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR Signale von **26**. Das Protonensignal der 2'-Methylgruppe zeigt im  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum ein Kreuzsignal mit H-2' und im HMBC-Spektrum werden Korrelationen mit C-2' und C-3' beobachtet (Abb. 7). Die geschlossene Dioxonan-Struktur über O-25 wird durch NOE-Korrelationen zwischen Me-26\* und Me-2' sowie H-2' charakterisiert. Weiterhin wird für den Ringschluß über O-24 eine HMBC-Korrelation zwischen H-24 und C-6' gefunden. Interessanterweise zeigt die OH-Gruppe an C-23 eine Kopplungskonstante von  $J = 8.8$  Hz zu H-23, während für H-22 nur ein breites Singulett zu finden ist. Das deutet darauf hin, daß eine partielle sterische Fixierung des Dioxonanringes über eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zur 23-Hydroxygruppe vorliegt. Da bisher noch keine Kristalle für die Röntgenstrukturanalyse erhalten wurden, muß die Konfiguration von **26** an C-24 und C-2' offen bleiben.

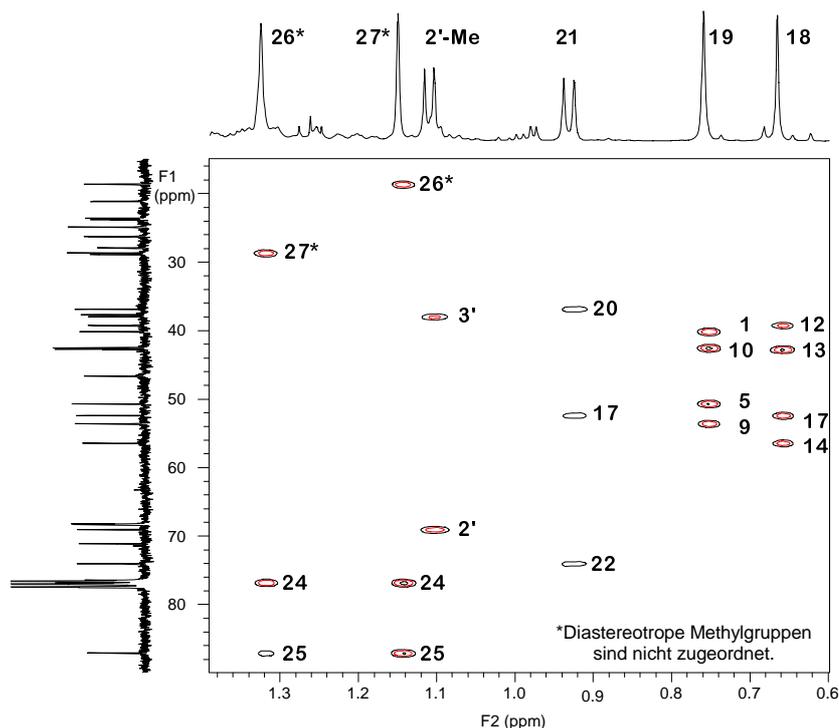
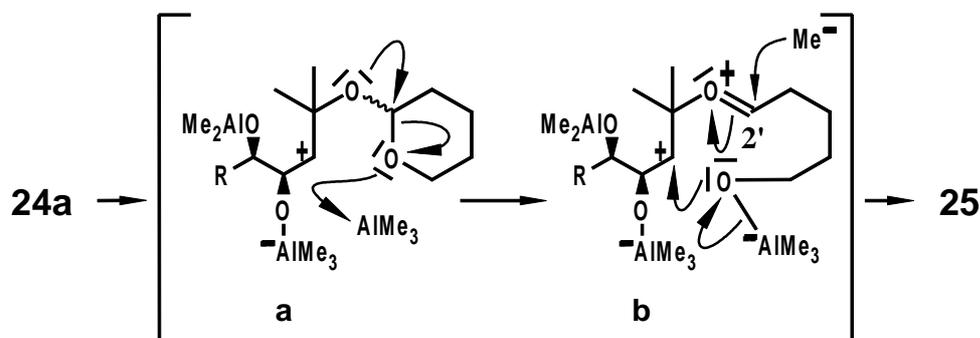


Abbildung 7.  $^1\text{H}$ -NMR Methylbereich des HMBC-Spektrums von **26** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß bei der Reaktion des Epoxides **24a** mit Trimethylaluminium und *n*-Butyllithium ein neuer Typ von Brassinosteroiden mit einem 24(25)-anneliertem Dioxonanring dargestellt wurde. Die Bildung von **25** aus **24a** kann erklärt werden über eine Epoxidöffnung zu **a**, gefolgt von einer endocyclischen Spaltung der C(2')-O-Bindung des Tetrahydropyranrings, was zum Intermediat **b** führt (Schema 18). Anschließender Ringschluß unter gleichzeitiger Methylierung an C-2' führt zu **25**. Von besonderem Interesse ist, daß nur C-2' Isomer **24a** die geeignete sterische Anordnung für diese Reaktion aufweist, die wahrscheinlich in einer unterschiedlichen räumlichen Fixierung des Tetrahydropyranrings über eine intramolekulare Wasserstoffbrücke besteht [192]. Ähnliche endocyclische Spaltungen von glykosidischen Acetalen unter Alkylierung mit Trimethylaluminium wurden kürzlich von Olsson et al. beschrieben [193].

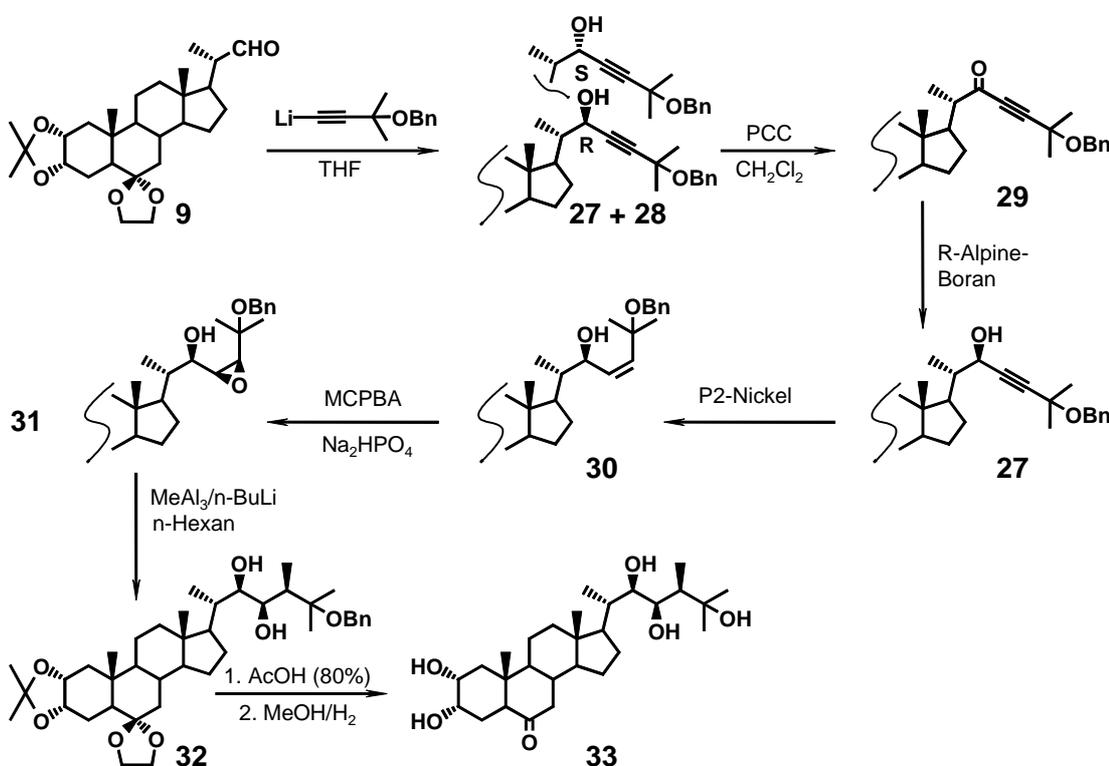


Schema 18. Vorgeschlagener Mechanismus der Bildung von **25**.

### 3.4.3. Seitenkettenaufbau mit 3-Benzyloxy-3-methyl-but-1-in

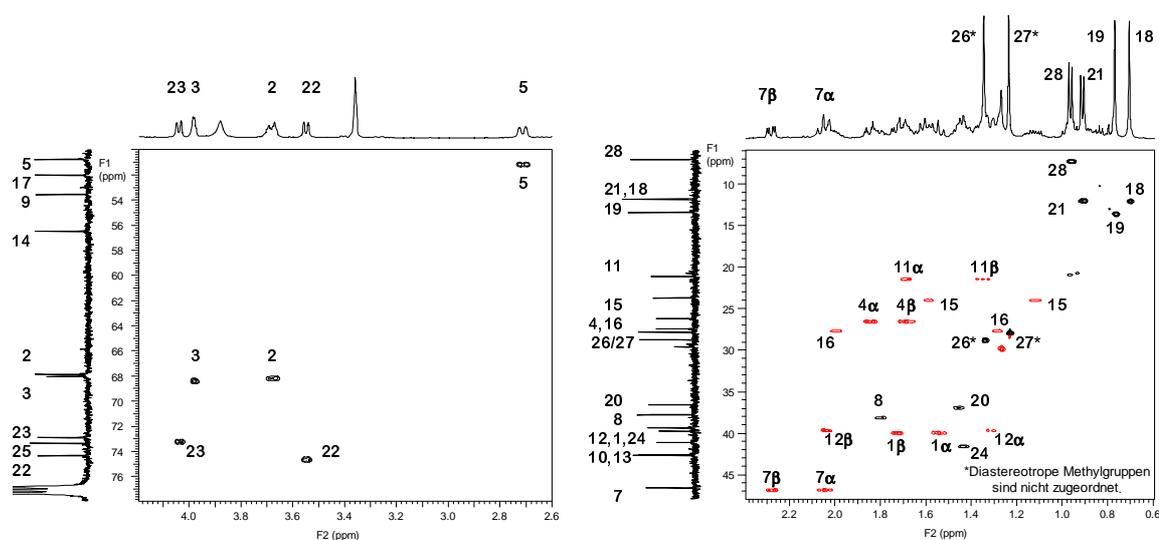
Nach den voranstehend beschriebenen Ergebnissen mit dem THP-Ether bestand die Aufgabe nunmehr darin, durch Einsatz einer anderen geeigneten Schutzgruppe für die 25-Hydroxyfunktion die Dioxonanbildung bei der Einführung der 28-Methylgruppe zu verhindern. In orientierenden Versuchen mit Trimethyl- und Triethylsilyl waren diese nicht ausreichend säurestabil, größere Silylschutzgruppen wie z.B. *tert.*-Butyldimethylsilyl ließen sich wegen der sterischen Hinderung nicht einführen. Dahingegen verläuft die Reaktion mit Benzylbromid trotz des räumlich anspruchsvollen Aromaten glatt. Da die Benzylschutzgruppe außerdem beim Einsatz von  $\text{Me}_3\text{Al}$  stabil ist [183], wurde diese Schutzgruppe für die 25-Hydroxyfunktion eingesetzt.

Das Seitenkettensynthon 3-Benzyloxy-3-methyl-but-1-in (**MBOB**) wurde, wie für **MBOT** beschrieben, mit dem 22-Aldehyd **9** gekoppelt (Schema 19). Das daraus resultierende 1:1 Gemisch aus (22*R*)- und (22*S*)-Alkohol **27** und **28** wurde anschließend durch Oxidation mit PCC in das 22-Keton **29** überführt. Die nachfolgende Reduktion mit R-Alpine-Boran liefert stereoselektiv den gewünschten (22*R*)-Alkohol **27**. Nach partieller Hydrierung zum Allylalkohol **30** mit P2-Nickel konnte auch die Epoxidgruppe durch Umsetzung mit MCPBA und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  unter Bildung von **31** eingeführt werden.



**Schema 19.** Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) mit Benzylschutzgruppe.

Als Schlüsselreaktion ist hier ebenfalls die Öffnung des Epoxidringes von **31** mit Trimethylaluminium unter gleichzeitiger Einführung der 28-Methylgruppe anzusehen. Bei dieser Reaktion wurde ein komplexes Verbindungsgemisch erhalten. Versuche zur Optimierung waren nicht erfolgreich, so daß nach diesem Verfahren das geschützte 25-Hydroxycastasteron **32** lediglich in 12% Ausbeute gewonnen werden konnte. Nach der Abspaltung der Schutzgruppen im A/B-Ringsystem unter Standardbedingungen wird die Benzylschutzgruppe durch Hydrierung mit einem Palladium-Katalysator (5% auf Aktivkohle) in MeOH/EtOAc entfernt. Durch diese Synthesefolge konnte die Zielverbindung 25-Hydroxycastasteron (**33**) erstmals dargestellt werden.



**Abbildung 8.** Zweidimensionales HSQC-Spektrum von 25-Hydroxycastasteron (**33**).

Der Strukturbeweis für 25-Hydroxycastasteron (**33**) wurde durch Kombination von ein- und zweidimensionalen NMR-Techniken erbracht (einschließlich COSY, HMBC). Der  $^{13}\text{C}$ -Bereich des HSQC-Spektrums zeigt fünf Signale im Hydroxylbereich zwischen 67 und 75 ppm (Abbildung 8). Lediglich vier dieser Signale zeigen eine Korrelation mit der  $^1\text{H}$ -Spur. In Übereinstimmung mit dem APT-Spektrum von **33** wird das im Vergleich zum Brassinolid (**18**) zusätzliche Signal bei  $\delta = 73.4$  einem quartären C-Atom mit einer Hydroxygruppe zugeordnet. Da im Methylbereich des Protonenspektrums für die diastereotropen Methylgruppen Me-26 und Me-27 keine Dubletts wie beim Brassinolid (**18**), sondern tieffeldverschobene Singulett mit  $\delta = 1.34$  und  $1.24$  beobachtet werden, folgt daraus, daß sich die neue Hydroxygruppe in 25-Position befindet.

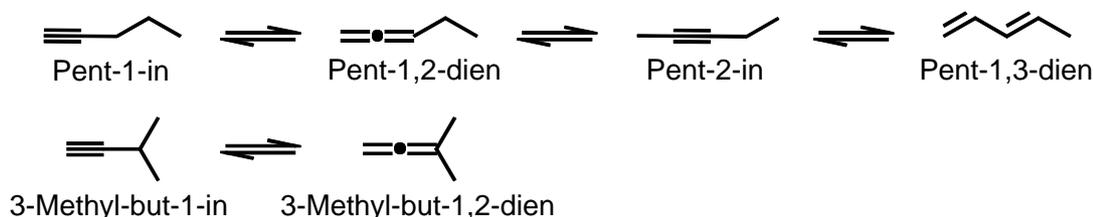
Mit dieser Struktur stehen auch die ESI-MS-Untersuchungen in Einklang. Das Molekulargewicht von **33** ergibt sich aus den ESI-Massenspektren mit positiver und negativer Ionisierung ( $m/z$  481  $[\text{M}+\text{H}]^+$  bzw.  $m/z$  479  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ). Bei Derivatisierung von **33** mit Dansylaminophenylboronsäure wird nur die Diolfunktion in der Seitenkette geschützt [194]. Demgemäß liefert das ESI-Massenspektrum mit positiver Ionisierung das Molekülion  $[\text{M}+\text{H}]^+$  bei  $m/z$  815. Die  $\alpha$ -Spaltung zwischen C-23/C-24 ergibt ein Ion bei  $m/z$  727  $[\text{M}+\text{H}-88]^+$ , woraus die Stellung der Hydroxygruppen in der Seitenkette hervorgeht.

### 3.5. Versuche zur Synthese von 25-Hydroxycastasteron über 25-Hydroxydolichosteron

Wie in den vorhergehenden Abschnitten gezeigt wurde, führt die Anwendung der Brassinolid-Strategie auf die Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) bei Verwendung des THP-Ethers zum Dioxonan-annelierten Castasteron-Derivat **26**, und mit der Benzylschutzgruppe wird bei der Epoxidöffnung lediglich eine Ausbeute von 12% **33** erzielt. Daher wurde folgende neue Strategie des Seitenkettenaufbaus untersucht. Ausgehend von Alkin **20** (Dreifachbindung in 23-Position) kann durch Propargylumlagerung Allen **34** mit einer 23,24-Dienstruktur dargestellt werden. Damit die gewünschte Seitenkette mit dem 22,23-Diol und der zusätzlichen 25-Hydroxyfunktion entsteht, werden nachfolgend die Positionen 23, 24 und 25 durch Bisepoxidation und Hydrolyse zum  $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxy-24-ke-ton **36** funktionalisiert. Nach Olefinierung der 24-Carbonylfunktion liefert diese Methode ein an der 25-Position hydroxyliertes Dolichosteron als weiteres neuartiges Brassinosteroid. Obwohl bisher noch nicht nativ nachgewiesen, ist ein natürliches Vorkommen dieses potentiellen Wirkstoffes anzunehmen. Durch nachfolgende Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe läßt sich aus dem (23*R*)-25-Hydroxydolichosteron die Zielverbindung 25-Hydroxycastasteron (**33**) darstellen.

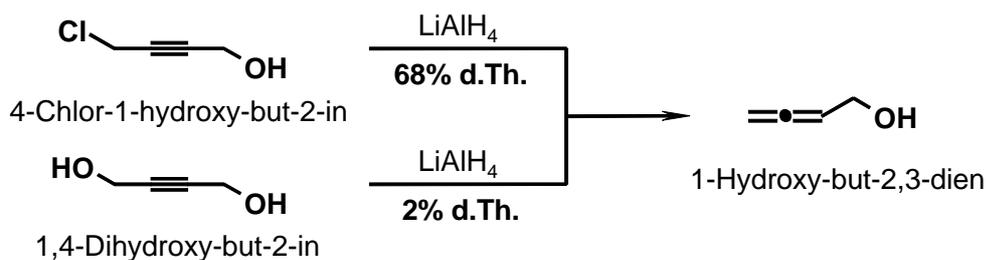
#### 3.5.1. Propargylumlagerung zum Allen

Eine Möglichkeit der Synthese von Allenen aus Alkinen beruht auf der Isomerie zwischen beiden Strukturtypen. Da diese Reaktion reversibel ist und oft weitere Umlagerungen stattfinden, werden häufig Gemische erhalten. Für die Zusammensetzung sind Basenstärke und Temperatur entscheidend. So führt die katalytische Isomerisierung von unsubstituiertem Pent-1-in mit Basen mittlerer Basizität (KOH/EtOH, 150°C) über Penta-1,2-dien hauptsächlich zu Pent-2-in, mit starken Basen (LDA, 0°C) werden auch konjugierte 1,3-Dienen gebildet (Schema 20). Präparative Bedeutung gewinnt die Reaktion erst dann, wenn Substituenten wie im Fall von 3-Methyl-but-1-in das Allen stabilisieren. Dieses lagert sich deshalb ausschließlich zum 3-Methyl-buta-1,2-dien um [195].



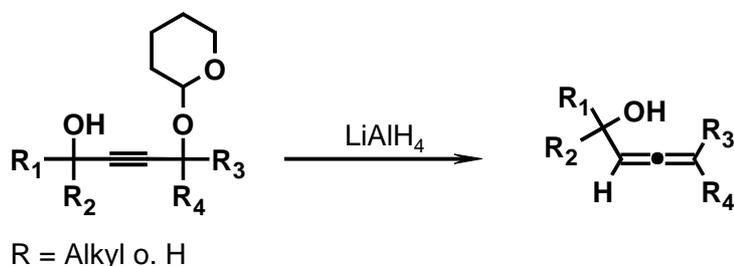
**Schema 20.** Isomerisierung von Alkinen.

Auch das unsymmetrisch substituierte 4-Chlor-1-hydroxy-but-2-in läßt sich in guter Ausbeute mit  $\text{LiAlH}_4$  zum 1-Hydroxy-buta-2,3-dien isomerisieren. Dagegen ist die direkte Umlagerung von 1,4-Dihydroxy-but-2-in praktisch nicht möglich (Schema 21) [196].



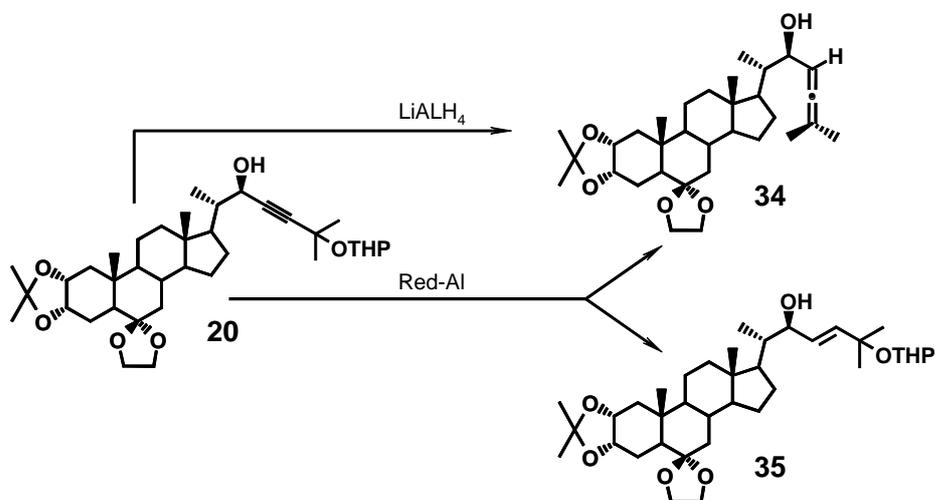
**Schema 21.** Direkte Reduktion von Propargylalkoholen.

Wird aber eine Hydroxyfunktion von Butindiolen als Tetrahydropyranylether geschützt, so lassen sich mit Reduktionsmitteln, z.B.  $\text{LiAlH}_4$ , Buta-1,2-dienole ( $\alpha$ -Hydroxyallene) darstellen (Schema 22) [196,197]. Die ungeschützte Hydroxygruppe wird bei dieser Reaktion nicht angegriffen. Damit eröffnet diese Methode einen guten Zugang zur Synthese von Allenen mit einer Hydroxyfunktion in  $\alpha$ -Stellung.



**Schema 22.** Reduktion der Mono-THP-Derivate von  $\alpha, \alpha'$ -Propargylalkoholen.

Im Fall der von uns synthetisierten Verbindung **20** (vgl. 3.4.) wurde deshalb die Isomerisierung zum 23,24-Dien unter gleichzeitiger Spaltung des 25-O-THP-Ethers erwartet. Die Reduktion wird mit  $\text{LiAlH}_4$  in absolutem Ether durchgeführt. Nach 2 Stunden bei  $40^\circ\text{C}$  wird  $\alpha$ -Hydroxyallen **34** isoliert und durch Chromatographie an Kieselgel gereinigt. Die Ausbeute an **34** beträgt bei dieser Reaktion 80% (Schema 23).



**Schema 23.** Propargylumlagerung von **20** zum Allen **34**.

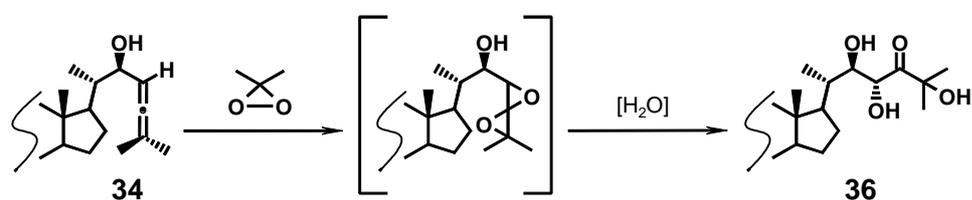
Wird für diese Reaktion das weniger reaktive Red-Al<sup>®</sup> [198,199] verwendet, so werden zwei Reaktionsprodukte isoliert. Neben der Bildung von gewünschtem Allen **34** wird die Dreifachbindung von **20** auch zu **35** mit *trans*-23(24)-Doppelbindung partiell hydriert.

Die Massenfnebestimmung für **34** von  $m/z$  514.3676 ( $M^+$ ) ergab eine Elementarzusammensetzung von  $C_{32}H_{50}O_5$ . Allen-Protonen sind mehr tieffeldverschoben als Alken-Protonen. Eine bemerkenswerte Eigenschaft im  $^1H$ -NMR der Allene ist, daß  $^1H, ^1H$ -Kopplungen über 5 Bindungen beobachtet werden können. Deshalb wird für das Proton H-23 der Verbindung **34** ein Multiplett ( $\delta = 5.02$ ) gefunden (die Methylgruppen C-26 und C-27 bewirken diese Aufspaltung). Im  $^{13}C$ -Spektrum wird das geminale  $sp$ -hybridisierte C-Atom des Allens bei sehr tiefem Feld erwartet, während die terminalen  $sp^2$ -hybridisierten C-Atome Signale zwischen 75-120 ppm zeigen sollten. In Übereinstimmung mit diesen theoretischen Werten wird für C-24 von **34** eine Verschiebung von  $\delta = 198.8$  und für die C-23/C-25 werden Signale bei  $\delta = 94.2$  bzw.  $\delta = 100.4$  erhalten.

### 3.5.2. Bisepoxidation und Hydrolyse zum $\alpha, \alpha'$ -Dihydroxyketon

Nachdem das Allen **34** durch Reduktion mit  $LiAlH_4$  synthetisiert wurde, erfolgt in diesem Abschnitt die Funktionalisierung zum  $\alpha, \alpha'$ -Dihydroxyketon (Carbonylgruppe an C-24). Dadurch wird die Seitenkette für den Austausch der Keto- durch eine Methylengruppe mittels Olefinierung vorbereitet.

Experimente, die Funktionalisierung durch "Flash"-Hydroxylierung mit Natriumperiodat und Ruthenium-(III)-chlorid [200] unter gleichzeitiger Dehydratisierung an C-24 zu erreichen, zeigten, daß diese Hydroxylierung innerhalb von 3 min bei vollständigem Umsatz von **34** ein komplexes Produktgemisch liefert. Das gewünschte  $\alpha, \alpha'$ -Dihydroxyketon ist dabei nur in Spuren enthalten.



**Schema 24.** Synthese des  $\alpha, \alpha'$ -Dihydroxyketons **36**.

Dahingegen gelingt die Einführung der funktionellen Gruppen in 23,24 und 25-Position zum  $\alpha, \alpha'$ -Dihydroxyketon **36** durch Bisepoxidation [201-204] und anschließende Hydrolyse (Schema 24). Während MCPBA bei der Epoxidation von Allenen ein Gemisch der Monoepoxide liefert, wird mit Dimethyldioxiran (**DMD**) das Bisepoxid erhalten [205]

(Zur Darstellung von **DMD** vgl. [206] und Exp. Teil.). In unseren Experimenten erfolgte die vollständige Umsetzung von Allen **34** mit **DMD** innerhalb von 30 min. Die Reaktion verläuft stereospezifisch unter Bildung von **36**.<sup>5</sup> Anhand der NMR-Daten von **36** konnte gezeigt werden, daß das intermediär gebildete Bisepoxid hydrolysiert und somit nach dieser Reaktion das gewünschte  $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxyketon vorliegt.<sup>6</sup> Hydrolyse durch Chromatographieren an Kieselgel bzw. Lösen von **36** in  $\text{CHCl}_3$  für die NMR-Analytik konnte für Verbindung **36** ausgeschlossen werden, da das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Rohproduktes bereits dem des  $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxyketons **36** entspricht. Das EI-Massenspektrum von **36** zeigt als Ion höchster Masse das Ion  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  bei  $m/z$  546, aus dem die weiteren Schlüsselionen gebildet werden:  $m/z$  531  $[\text{M}-15]^+$ , 417 (C17/C20-Spaltung), 335  $[\text{M}-211]^+$ , 239 (B-Ringspaltung) und 99.<sup>7</sup>

Die Zuordnung der Konfiguration der neuen Verbindung **36** an C-23 ist NMR-spektroskopisch nicht möglich. Durch den Vergleich der LC-MS- und NMR-Daten von den Verbindungen **42a** und **42b** (vgl. 3.5.4.) mit dem bereits synthetisierten 25-Hydroxycastasteron (**33**) (vgl. 3.4.3.) konnte erst am Ende dieses Syntheseweges die 23-epi-Konfiguration bestimmt werden. In den Schemata 24, 25 und 26 wird die 23-epi-Konfiguration verwendet, das entspricht einer (23*R*)-Konfiguration für die Verbindungen **36** und **37**, sowie einer (23*S*)-Konfiguration für die Verbindungen **38-41**, **42a** und **42b**.

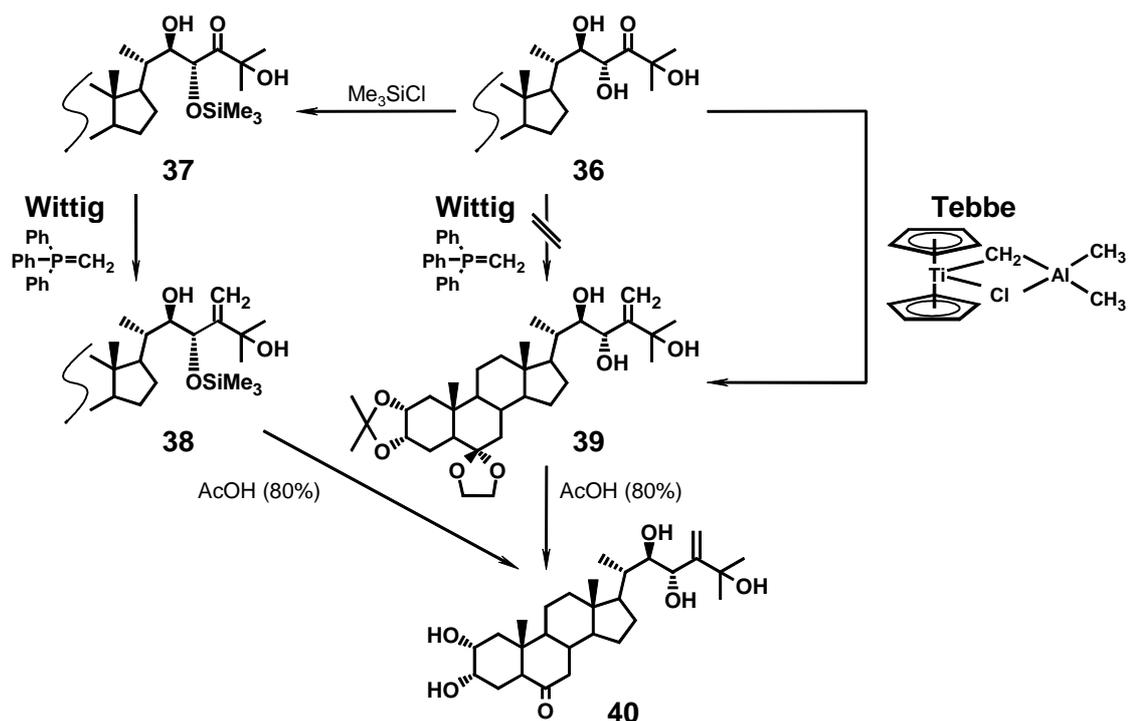
### 3.5.3. Synthese von 25-Hydroxy-23-epidolichosteron durch Olefinierung

Die Umsetzung von **36** mit Methyltriphenylphosphoran (Ylid)(vgl. Exp. Teil) nach Wittig [207-209] liefert nicht die gewünschte 24(28)-Methylengruppe. Trimethylsilylgruppen sind unter den Bedingungen der Wittig-Reaktion stabil und können somit als Schutzgruppen eingesetzt werden (Schema 25). Die Bildung eines Tris(trimethylsilyl)ethers ist wegen der sterischen Hinderung der 25-Hydroxygruppe nicht zu erwarten. Bei der Umsetzung von Verbindung **36** mit  $\text{TMSiCl}$  wurde jedoch der Monosilylether **37** erhalten. Neben sterischer Hinderung ist als weitere Ursache für diese Reaktionsträgheit möglicherweise eine Wasserstoffbrücke zwischen der 22-Hydroxygruppe und dem Carbonylsauerstoff an C-24 verantwortlich.

<sup>5</sup> In einem Versuch wurde Tautomerie der 23-Hydroxy-24-Keto-Struktur beobachtet, wodurch ein Diastereomerenmisch in 23-Position erhalten wurde. Die Verbindungen **36** und **36a** wurden durch HPLC getrennt. Das 2:1-Verhältnis von **36** zu **36a** wurde durch NMR bestimmt. Die physikalischen Daten beider Verbindungen werden im Exp. Teil beschrieben.

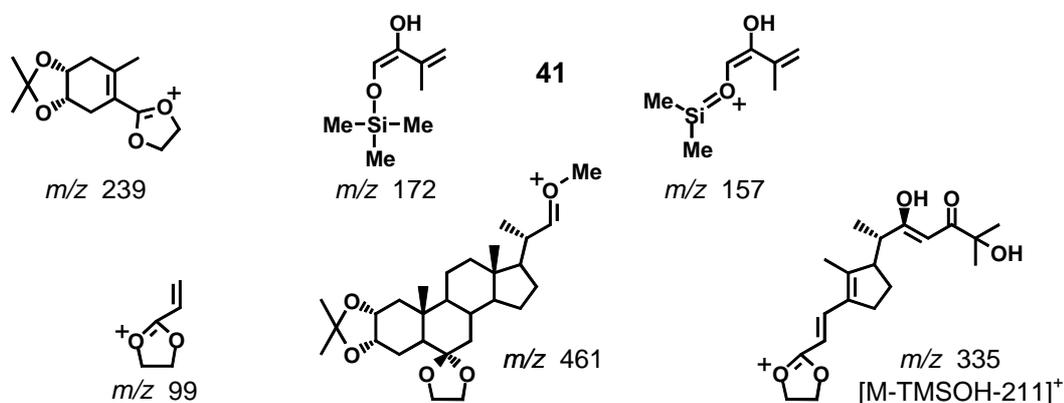
<sup>6</sup> Das Bisepoxid konnte als Rohprodukt durch NMR nachgewiesen werden, nachdem ein 22-trimethylsilyliertes Derivat von **34** hergestellt und mit **DMD** umgesetzt wurde. Für H-23 wird bei 3.60 ppm ein Dublett mit einer kleinen Kopplungskonstante von 1 Hz gefunden. Erwartungsgemäß ist C-24 mit 88.0 ppm tieffeldverschoben, für C-23/25 konnten Signale bei 66.1 und 64.0 ppm zugeordnet werden. Die weitere Charakterisierung gelang nicht, da das Bisepoxid bei der Chromatographie mit Kieselgel vollständig zum  $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxyketon hydrolysierte.

<sup>7</sup> Analoge Fragmentierung konnte später bei den ebenfalls 25-hydroxylierten Verbindungen **37**, **38** und **39** beobachtet werden.



**Schema 25.** Olefinierung zum 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**).

Die Auswertung der NMR-Daten lässt keine eindeutige Zuordnung des Trimethylsilylethers zur Position 22 oder 23 zu. Diese Zuordnung kann jedoch mit Hilfe von HR-MS erfolgen. Als Peak höchster Masse wird das Ion  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  ( $m/z$  618) beobachtet. Ein wichtiges Schlüsselfragment ist das durch  $\alpha$ -Spaltung zwischen C-22/C-23 gebildete Ion bei  $m/z$  172 ( $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2\text{Si}$ ) (Abbildung 9, vgl. Exp. Teil). Methylabspaltung aus diesem Ion führt zu dem durch Konjugation resonanzstabilisierten Kation bei  $m/z$  157 (100%,  $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{Si}$ ). Diese beiden Fragmente determinieren die Trimethylsilylgruppe am C-23. Das Ion  $m/z$  461 ( $\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}_7$ ), dessen Bildung mit einer Methylwanderung von der Trimethylsilylgruppe erklärbar ist, repräsentiert formal ein zum Basispeak bei  $m/z$  157 komplementäres Bruchstück. Die Abspaltung von Trimethylsilanol führt zum Ion bei  $m/z$  546, woraus durch eine B/C-Ringspaltung das Fragment  $[\text{M}-\text{TMSOH}-211]^+$  ( $m/z$  335) entsteht.



**Abbildung 9.** Massenspektroskopische Fragmente von **37**.

Nach der Bildung des Monosilylethers **37** kann die Olefinierung der 24-Carbonylfunktion durch Wittig-Reaktion erfolgen. Dabei wird Verbindung **38** mit 24(28)-Methylengruppe in 64%-iger Ausbeute, bezogen auf umgesetzten Ausgangsstoff **37**, erhalten.

Zur Optimierung der Olefinierung wurde der Einsatz modifizierter Reagenzien für die Wittig-Reaktion untersucht. Das auch bei Gibberellinen eingesetzte Lombardo-Reagenz [210] kann in Gegenwart von freien Hydroxyfunktionen verwendet werden. Die Umsetzung von **36** mit diesem Reagenz lieferte jedoch nicht das Alkylierungsprodukt **39**. Tebbe-Reagenz, ein  $\mu$ -Chlor- $\mu$ -methylene-[bis-(cyclopentadienyl)-titan]-dimethylaluminium Komplex [211-213], ist besonders für die Olefinierung von gehinderten Ketonen geeignet [214-216]. Ein Beispiel ist die Methylenierung einer 24-Carbonylgruppe in der Cholestan-Seitenkette mit dem Tebbe-Reagenz für 2.5 h bei 0°C in 90%-iger Ausbeute, die kürzlich beschrieben wurde [217]. Diese hohe Ausbeute konnte erreicht werden, da sich in der Cholestan-Seitenkette keine weiteren funktionellen Gruppen befinden. Die Zugänglichkeit der 24-Position von Verbindung **36** ist durch die drei Hydroxygruppen in der Seitenkette herabgesetzt. Für die Umsetzung von **36** wird deshalb eine längere Reaktionszeit erwartet.

Deshalb wurde **36** bei RT für 24 h mit dem Tebbe-Reagenz behandelt. Danach ist **36** vollständig umgesetzt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 0.5 N NaOH gestoppt und anschließend an Kieselgel chromatographiert. Neben der mit 53% Ausbeute erhaltenen Verbindung **39** werden einige Nebenprodukte beobachtet, die nicht weiter charakterisiert wurden. Die Abspaltung der Schutzgruppen von **38** bzw. **39** erfolgt mit 80%-iger Essigsäure und liefert 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**) in 90% Ausbeute. Bezogen auf Stigmasterol (**1**) beträgt die Gesamtausbeute 6%.

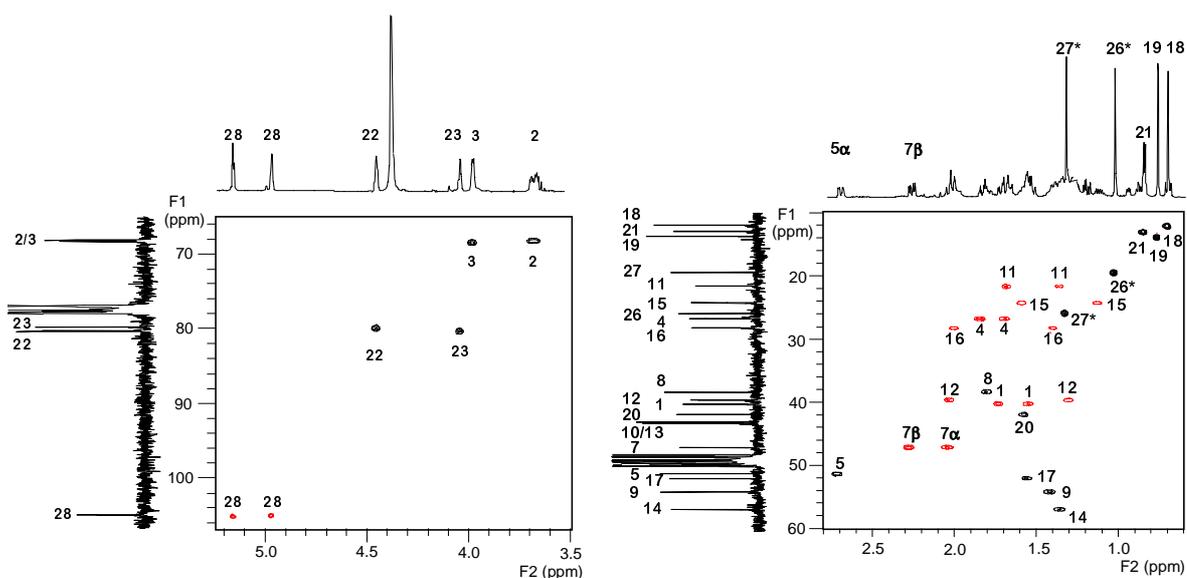


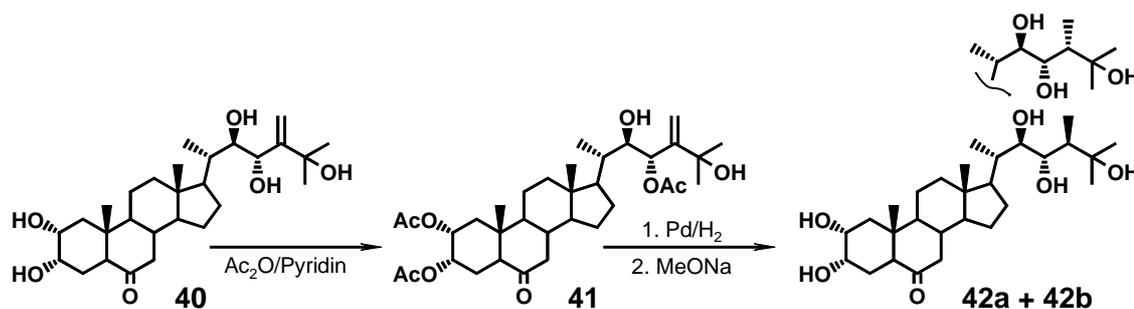
Abbildung 10. HSQC-Spektrum von 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**).

Das Molekölion für Verbindung **40** wird aus dem ESI-Massenspektrum mit positiver Ionisierung ( $m/z$  501  $[M+Na]^+$  und 479  $[M+H]^+$ ) erhalten. Der Strukturbeweis erfolgte durch NMR-Spektroskopie in der Kombination von ein- und zweidimensionalen Techniken (Abbildung 10). Im  $^1H$ -Spektrum sind deutlich die beiden tieffeldverschobenen Protonen der 24(28)-Methylengruppe zu erkennen. Das entsprechende  $^{13}C$ -Signal ist ebenso tieffeldverschoben wie das in der Abbildung 10 nicht dargestellte von C-24 ( $\delta = 154.5$ ). Während im HSQC-Spektrum nur die  $^{13}C$ -Signale für die C-Atome mit sekundären Hydroxygruppen in 2,3,22- und 23-Position beobachtet werden, zeigt das APT-Spektrum eindeutig, daß Verbindung **40** insgesamt fünf Hydroxygruppen enthält.

### 3.5.4. Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe

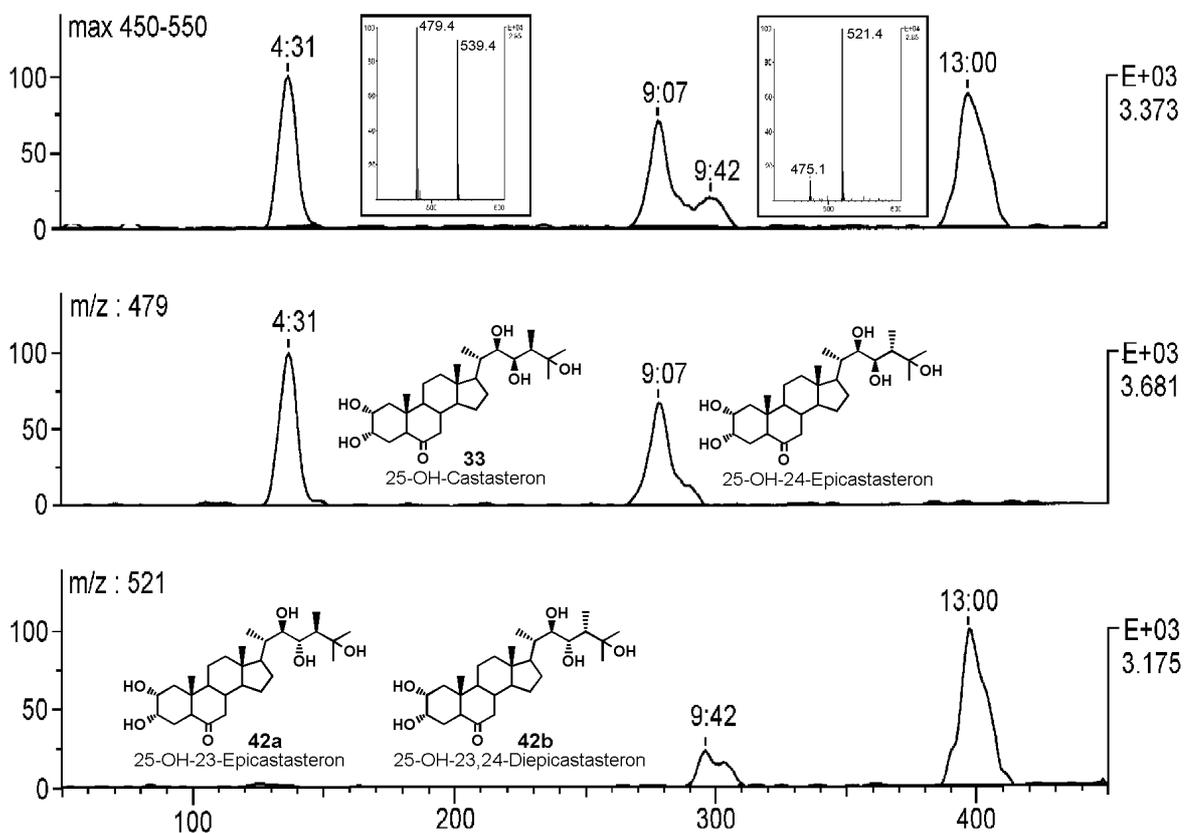
In der Literatur wurden bereits Hydrierungen der 24(28)-Methylengruppe bei unterschiedlicher Substitution der 25-Position beschrieben. So liefert 25-Methyldolichosteron ein Gemisch aus 25-Methylcastasteron und 25-Methyl-24-epicastasteron im Verhältnis von 87:13 [218]. Auch die katalytische Reduktion von Dolichosteron über Platin mit Tritiumgas wurde durchgeführt [219,220]. Ebenfalls beschrieben ist die Hydrierung der Dolicho-Seitenkette mit 10% Pd auf Aktivkohle in EtOAc, wobei beide 24-Epimeren (24S):(24R) im Verhältnis von 4:1 entstehen [221,222]. Allerdings muß für die Hydrierung die Diolfunktion der Seitenkette als Acetonid geschützt werden, da sonst ein Gemisch aus mehreren Verbindungen entsteht [218].

In Analogie zu diesen Untersuchungen sollte deshalb die noch freie Diolfunktion von **39** als Acetonid geschützt werden. Allerdings fand unter den üblichen Bedingungen keine Reaktion statt. Da von den bekannten (22R,23R)-Diolen Acetonide gebildet werden, liefert das Ausbleiben dieser Reaktion bei Verbindung **39** einen ersten Hinweis auf das Vorliegen einer (22R,23S)-Konfiguration. Bei der anschließenden Acetylierung von **40** mit Acetanhydrid und kat. Mengen DMAP wird nach 3 Tagen nicht das erwartete 2,3,22,23-Tetraacetat, sondern lediglich ein Triacetat erhalten. Mit NMR-Spektroskopie (HMBC) konnte H-22 ( $\delta = 5.54$ , d, 6.9/1.9 Hz) und H-23 ( $\delta = 3.91$ , d, 6.9/1.4 Hz) zugeordnet werden. Das tieffeldverschobene Signal von H-23 zeigt, daß in der Seitenkette die 23-Hydroxygruppe acetyliert wurde und ein  $2\alpha,3\alpha,23$ -Triacetat **41** vorliegt (Schema 26).



**Schema 26.** Hydrierung von 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**)

Bei der anschließenden Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe von Verbindung **41** mit 10% Pd auf Aktivkohle in EtOAc konnte kein Umsatz beobachtet werden. Deshalb wurde in einer weiteren Reaktion Eisessig als Lösungsmittel verwendet. Dadurch gelingt die Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe innerhalb von 30 h glatt, ohne daß die ungeschützte 6-Ketogruppe angegriffen wird.<sup>8</sup> Nach Abtrennen des Katalysators und Verseifung der Acetylgruppen mit Natriummethylat wird das Gemisch aus den freien Verbindungen **42a+42b** erhalten. Das 3:1 Verhältnis der beiden Epimere wurde mit Hilfe der HPLC ermittelt. Werden die in der Literatur beschriebenen (24*S*)- zu (24*R*)-Verhältnisse nach der Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe bei methyl- (9:1) [218] und unsubstituierter (4:1) [221,222] 25-Position zugrunde gelegt, so läßt sich auch hier ein Verhältnis **42a** (24*R*) : **42b** (24*S*,24-*epi*) von 3:1 vermuten. Eine eindeutige Zuordnung der 24-Konfiguration von **42a** und **42b** ist jedoch anhand der NMR-Daten nicht möglich.



**Abbildung 11.** LC-MS von 25-Hydroxycastasteron (**33**), 25-Hydroxy-24-epicastasteron [223] und dem Verbindungsgemisch **42a+42b**.

<sup>8</sup> Im <sup>1</sup>H-Spektrum nach der Hydrierung von **41** ist das H-23-Signal stark hochfeldverschoben [ $\delta = 5.00$ , m; **41**:  $\delta = 5.54$ , dd (6.9/1.9)], H-22 dagegen nur um 0.02 ppm [ $\delta = 3.89$ , m; **41**:  $\delta = 3.91$ , dd (6.9/1.4)]. Auch für die Methylgruppe Me-21 wird ein hochfeldverschobenes Dublett gemessen [ $\delta = 0.89$ , d (7.2); **41**:  $\delta = 0.94$ , d (6.3)]. Weiterhin findet eine Verschiebung der Methylprotonen der Acetylgruppe an C-23 statt [ $\delta = 2.08$ , s; **41**:  $\delta = 2.12$ , s]. Die Protonensignale für H-5 $\alpha$  und H-7 $\beta$  sind in Bezug auf **41** nicht verschoben, das 6-Keton wurde somit nicht angegriffen.

Die bislang noch unbekannte Konfiguration der 23-Hydroxygruppe konnte durch den Vergleich der LC-MS- und NMR-Daten bestimmt werden. Dazu wurden 25-Hydroxycastasteron (**33**), 25-Hydroxy-24-epicastasteron [223] und das Gemisch **42a+42b** mit LC-MS untersucht (Abbildung 11). Dabei werden für **42a** und **42b** nicht nur längere Retentionszeiten, sondern es wird auch ein unterschiedliches MS-Verhalten beobachtet. Während die (22*R*,23*R*)-Diole im ESI-Massenspektrum bei negativer Ionisierung Molekülionen ( $m/z$  479 [M-H]<sup>-</sup>) und Acetylanlagerung ( $m/z$  539 [M+OAc]<sup>-</sup>) zeigen, wird für **42a** und **42b** ausschließlich das Ion bei  $m/z$  521 [M+OAc-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup> detektiert. Dieser Ionotyp wurde mit  $m/z$  519 bereits vor der Hydrierung für Verbindung **40** gefunden. Da weiterhin die Verbindungen **40** und **41** mit Ausnahme der 23-Konfiguration eindeutig charakterisiert werden konnten, ist den Verbindungen **42a** und **42b** die (23*S*)-Konfiguration zuzuordnen. Das Gemisch **42a+42b** besteht somit aus 25-Hydroxy-23-epicastasteron und 25-Hydroxy-23,24-diepicastasteron.

Obwohl die Verbindungen **42a** und **42b** als Gemisch vorliegen, konnten auch dem <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum wesentliche Strukturaussagen entnommen werden. Während die Kohlenstoffatome C-1 bis C-12 und C-19 keine Veränderung gegenüber 25-Hydroxycastasteron (**33**) aufweisen, sind die Seitenkettenatome gegenüber **33** deutlich verschoben. Für die Kohlenstoffatome C-13 und C-18 werden kleine Signalaufspaltungen gefunden. Bei den <sup>13</sup>C-Signalen für die Seitenkette treten zwischen den 24-Epimeren **42a** und **42b** signifikante Unterschiede bei den chemischen Verschiebungen von bis zu 4 ppm auf. Keine der beiden Verbindungen stimmt in den <sup>13</sup>C-chemischen Verschiebungen mit 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 25-Hydroxy-24-epicastasteron überein. Diese Ergebnisse lassen sich ebenso wie die LC-MS Untersuchungen nur mit einer 23-epi-Konfiguration sowohl für **42a** als auch für **42b** erklären.

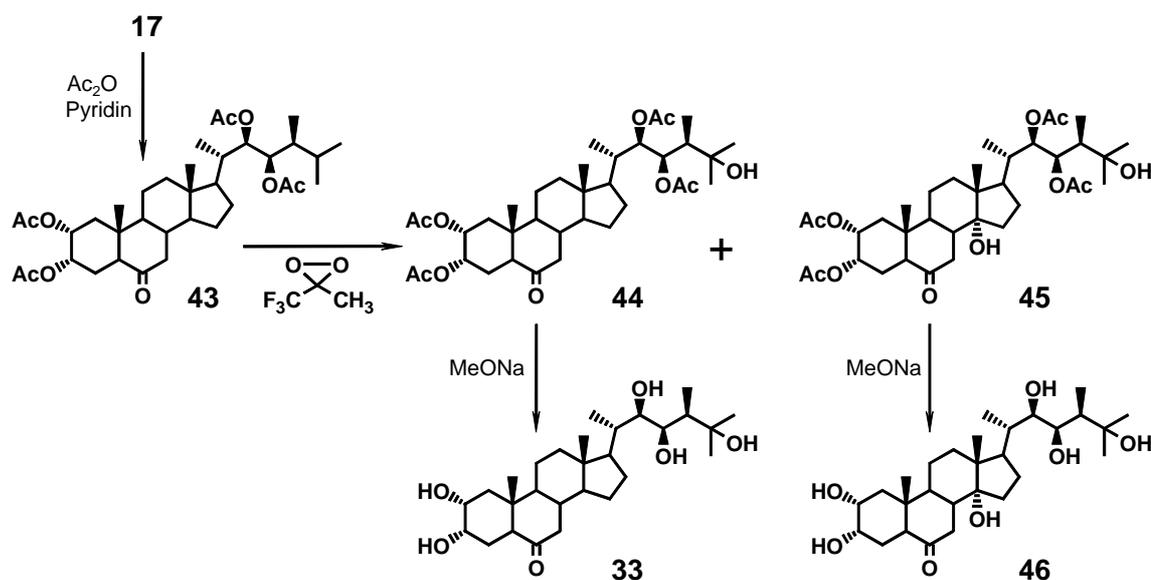
Damit über diese neue Strategie des Seitenkettenaufbaus auch die (23*R*)-konfigurierte Hydroxygruppe zugänglich wird, könnte ein alternativer Syntheseweg wie folgt verlaufen: Nach der Propargylumlagerung zum Allen **34** wird die (22*R*)-Hydroxygruppe geschützt und erst dann die Bisepoxidation mit nachfolgender Hydrolyse durchgeführt. Im Anschluß daran sollte es möglich sein, mit Hilfe der Mitsunobu-Reaktion die (23*S*)- in die gewünschte (23*R*)-Hydroxygruppe zu überführen, doch müssen diese Experimente weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

### 3.6. Regioselektive Oxyfunktionalisierung mit TFD

Für die Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) wurden bisher verschiedene Verfahren des Seitenkettenaufbaus vorgestellt. In diesem Abschnitt soll eine weitere Möglichkeit, die regioselektive Oxyfunktionalisierung, diskutiert werden. Für diese Reaktion werden die durch Seitenkettenaufbau zugänglichen Brassinosteroide Castasteron (**17**) und Brassinolid (**18**) verwendet (vgl. 3.3.).

#### 3.6.1. Synthese von 25-Hydroxycastasteron und 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasteron

Aus der Literatur sind für die Oxyfunktionalisierung der tertiären 25-Position unter direkter C-H-Insertion des angreifenden Sauerstoffs verschiedene Verfahren bekannt. So wurde die RuO<sub>4</sub>-Oxidation von Vitamin D Präkursoren (30% Ausbeute) [224], die Reaktion von 5 $\alpha$ -Cholestan-3-on mit 2,6-Dichlorpyridin-*N*-oxid und Rutheniumporphyrinen (26 % Ausbeute) [225], sowie die intramolekulare "long range"-Hydroxylierung (Breslow-Methode) der Cholestan-Seitenkette (7% Ausbeute) [226] beschrieben. Eine weitere Möglichkeit der Funktionalisierung in 25-Position besteht in der Umsetzung mit Methyl(trifluormethyl)-dioxiran (TFD) [205,227]. Wie für 24-Epicastasteron, 24-Epibrassinolid und Brassinolid (**18**) gezeigt werden konnte [223,124], wird die 25-Position zuerst funktionalisiert. Allerdings müssen die oxidationsempfindlichen Hydroxygruppen vorher geschützt werden. Hierzu wurden die verwendeten Brassinosteroide zunächst tetraacetyliert. Die Verwendung von Acetylgruppen führt im Fall von Brassinolid (**18**) in 78%-iger Ausbeute zu 25-Hydroxybrassinolid (**50**). Bei 24-Epibrassinosteroiden (24*R*) wurde unter diesen Bedingungen keine 25-, sondern eine 14 $\alpha$ -Hydroxylierung gefunden. Wird hier in der Seitenkette Acetonid als Schutzgruppe verwendet, so erfolgt die Oxyfunktionalisierung wie beim Brassinolid (**18**) zuerst in der 25-Position [223].



**Schema 27.** 25-Hydroxycastasteron (**33**) durch direkte Oxyfunktionalisierung von **43**.

Ausgehend von diesen Ergebnissen wurde in eigenen Untersuchungen Castasteron (**17**) als Tetraacetat **43** geschützt und mit **TFD** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  umgesetzt (Schema 27). Die Reaktion liefert zwei Produkte. Neben der Zielverbindung 25-Hydroxycastasterontetraacetat (**44**) wurde eine zweite Verbindung isoliert, deren Struktur mit NMR-Spektroskopie als 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasterontetraacetat (**45**) identifiziert werden konnte. Weitere durchgeführte Experimente zur Ausbeuteoptimierung durch Variation der **TFD**-Menge lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- a) Wird die Reaktion nach dem Verbrauch von einem Äquivalent beendet, so werden neben 42% Ausgangsstoff **43** und 43% der gewünschten Verbindung **44** 9% Dihydroxylierungsprodukt **45** gefunden.
- b) Wird Verbindung **43** mit einem Überschuß **TFD** vollständig umgesetzt (Zugabe erfolgt in Portionen von je einem Äquivalent nach Verbrauch, insgesamt 4 Äquiv.), so wird als Hauptprodukt nicht die 25-hydroxylierte Verbindung **44** (30%), sondern die 14 $\alpha$ ,25-dihydroxylierte Verbindung **45** (50%) isoliert.

Nach der Trennung von **44** (72% Ausbeute bezogen auf umgesetzten Ausgangsstoff) und **45** durch Säulenchromatographie an Kieselgel (DC Hexan:EtOAc = 70:30; **44**  $R_f$  = 0.47, **45**  $R_f$  = 0.30) werden durch Behandlung mit Natriummethylat 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasteron (**46**) erhalten. Die Struktur von **46** wurde durch NMR-Methoden nachgewiesen. Als signifikante Änderung wird im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum für C-14 eine Verschiebung von  $\delta = 85.0$  beobachtet, welche die Position der zusätzlich eingeführten Hydroxygruppe anzeigt.

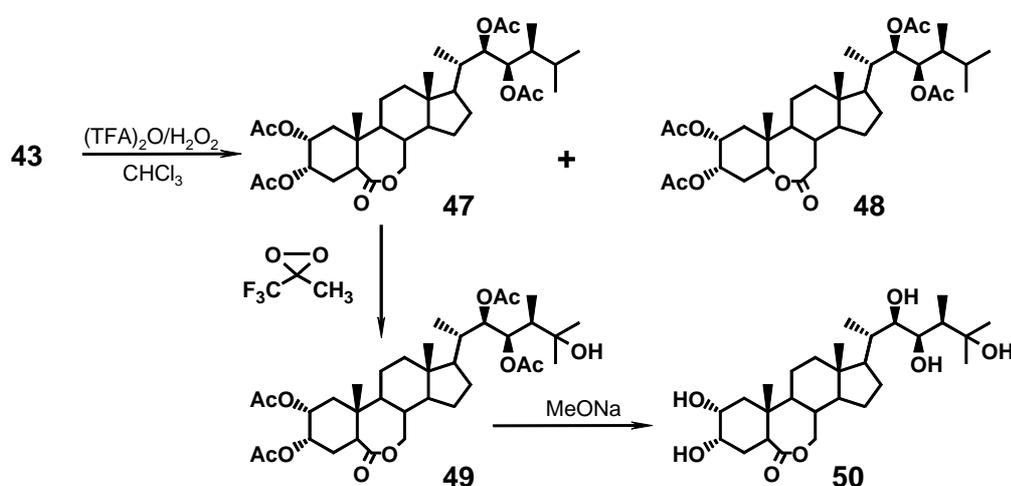
Durch die Übereinstimmung der physikalischen Daten für auf diesem Wege gewonnenem 25-Hydroxycastasteron (**33**) mit dem in Abschnitt 3.4.3. synthetisiertem **33** konnte gezeigt werden, daß die Zielverbindung 25-Hydroxycastasteron (**33**) auch über die regioselektive Oxyfunktionalisierung mit **TFD** zugänglich ist. Dabei wurde ausgehend vom Castasteron eine Gesamtausbeute von 58% erreicht.

### 3.6.2. Synthese von 25-Hydroxybrassinolid

Die Baeyer-Villiger-Oxidation der 6-Ketone (Tetraacetate bzw. freie Verbindungen) wird als Standardreaktion für die Einführung der Lactongruppe im B-Ring verwendet (vgl. 3.3.) [8,110-112]. Überraschend ist daher, daß weder im Fall der Tetraacetate **44** und **45**, noch bei den freien Verbindungen **33** und **46** mit der in vivo hergestellten Trifluorperessigsäure eine Umsetzung beobachtet werden konnte. Unter den gleichen Bedingungen

durchgeführte Oxidationen von Castasteron (**17**) zeigten, daß nur die 25-hydroxylierten Verbindungen nicht reagieren. Ein Einfluß der strukturell entfernten 25-Hydroxyfunktion auf den Reaktionsverlauf ist daher nicht auszuschließen. Die Aufklärung dieses überraschenden Phänomens muß jedoch weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Alternativ zur Lactonisierung von **33** kann 25-Hydroxybrassinolid (**50**) auch durch direkte Oxyfunktionalisierung gewonnen werden [223,124]. Dazu wird Castasterontetraacetat (**43**) durch Baeyer-Villiger-Oxidation in das Brassinolidtetraacetat (**47**) überführt (Schema 28). Hierbei wurde das ebenfalls entstehende und bisher nicht näher charakterisierte Isolactontetraacetat **48** durch Chromatographie an Kieselgel gewonnen.



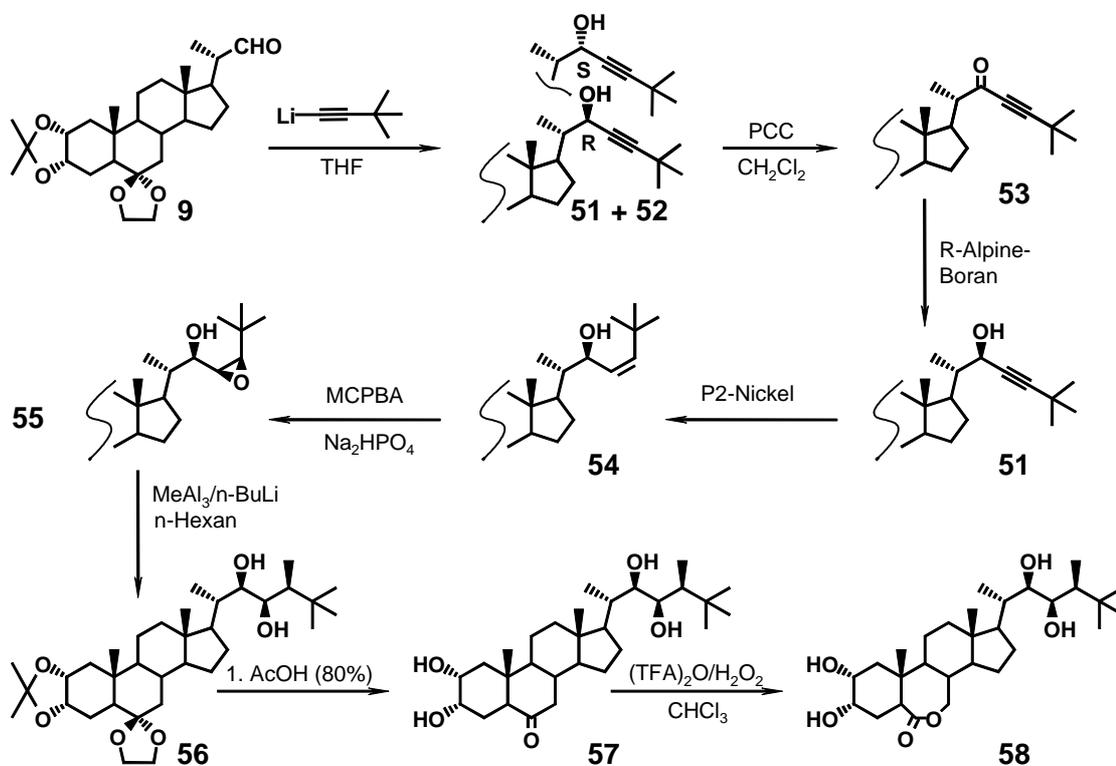
**Schema 28.** Regioselektive Oxyfunktionalisierung der Lactone.

Das gereinigte **47** wird anschließend mit **TFD** umgesetzt. Bei der Umsetzung mit einem Äquivalent **TFD** wurde als Hauptmenge der Ausgangstoff wiedergewonnen. Bezogen auf umgesetztes **47** wird das 25-hydroxylierte Lacton **49** in 57% Ausbeute erhalten. Eine weitere Hydroxylierung zum  $14\alpha,25$ -Dihydroxybrassinolid [124] konnte bei Verwendung von nur einem Äquivalent **TFD** im Gegensatz zur Reaktion des Castasterontetraacetates (**43**) nicht nachgewiesen werden (vgl. 3.6.1.). Nach der Verseifung der Acetylgruppen von **49** wird das gewünschte freie 25-Hydroxybrassinolid (**50**) in 40% Gesamtausbeute, von Brassinolid (**18**) ausgehend, erhalten.

### 3.7. Synthese von 25-Methylcastasteron und 25-Methylbrassinolid

In den vorangehenden Abschnitten dieser Arbeit wurde ausführlich auf die Synthese von Castasteron (**17**) und Brassinolid (**18**) mit unsubstituierter 25-Position sowie auf die 25-hydroxylierten Vertreter 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 25-Hydroxybrassinolid (**50**) eingegangen. Weitere Brassinosteroide sind durch eine zusätzliche 25-Methylgruppe gekennzeichnet. Auch diese Brassinosteroide besitzen eine hohe Bioaktivität. Für 25-Methylbrassinolid (**58**) wurde im RLI-Test sogar eine geringfügig höhere Bioaktivität als für Brassinolid (**18**) beobachtet [228]. 25-Methylcastasteron (**57**) und 25-Methylbrassinolid (**58**) sollen für detaillierte NMR-Untersuchungen [116,229] und "Molekular Modeling" [108,109] synthetisiert werden. Weiterhin lässt ein Vergleich der in dieser Arbeit synthetisierten 25-unsubstituierten und 25-hydroxylierten Verbindungen mit den 25-methylierten Vertretern interessante Struktur-Wirkungsbeziehungen erwarten (vgl. 3.8.).

25-Methylcastasteron (**57**) und 25-Methylbrassinolid (**58**) wurden bisher durch Hydrierung aus 25-Methyldolichosteron synthetisiert [228,207], da die alkylierende Epoxidöffnung des Seitenkettenaufbaus von Brassinolid (**18**) nicht auf die 25-methylierten Vertreter übertragen werden konnte. Wie im folgenden Abschnitt gezeigt wird, ist diese alkylierende Epoxidöffnung jedoch möglich, der Umweg über 25-Methyldolichosteron entfällt somit.



**Schema 29.** Synthese von 25-Methylcastasteron (**57**) und 25-Methylbrassinolid (**58**).

In eigenen Untersuchungen wurde der 22-Aldehyd **9** mit 3,3-Dimethyl-but-1-in (DMB) umgesetzt. Das erhaltene Gemisch der beiden Propargylalkohole **51** und **52** konnte durch Chromatographie an Kieselgel teilweise getrennt werden. Obwohl der (22*R*)-Alkohol **51** den gleichen  $R_f$ -Wert wie der (22*S*)-Alkohol **52** aufweist, wird zuerst der (22*S*)-Alkohol **52** und anschließend nach Mischfraktionen der (22*R*)-Alkohol **51** eluiert. Um die Ausbeute an gewünschtem **51** zu erhöhen, wurde auch hier die Hauptmenge in das 22-Keton **53** überführt (Schema 29). In Analogie zu den bisher beschriebenen Synthesen liefert das 22-Keton **53** durch Umsetzung mit R-Alpine-Boran ausschließlich den (22*R*)-Alkohol **51**. Dieser wurde, wie für **11** beschrieben (vgl. 3.3.), mit dem P2-Nickel Katalysator zum Allylalkohol **54** partiell hydriert und danach mit MCPBA/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> zu **55** epoxidiert. Der Strukturbeweis für Verbindung **55** erfolgte mit NMR (Abbildung 12).

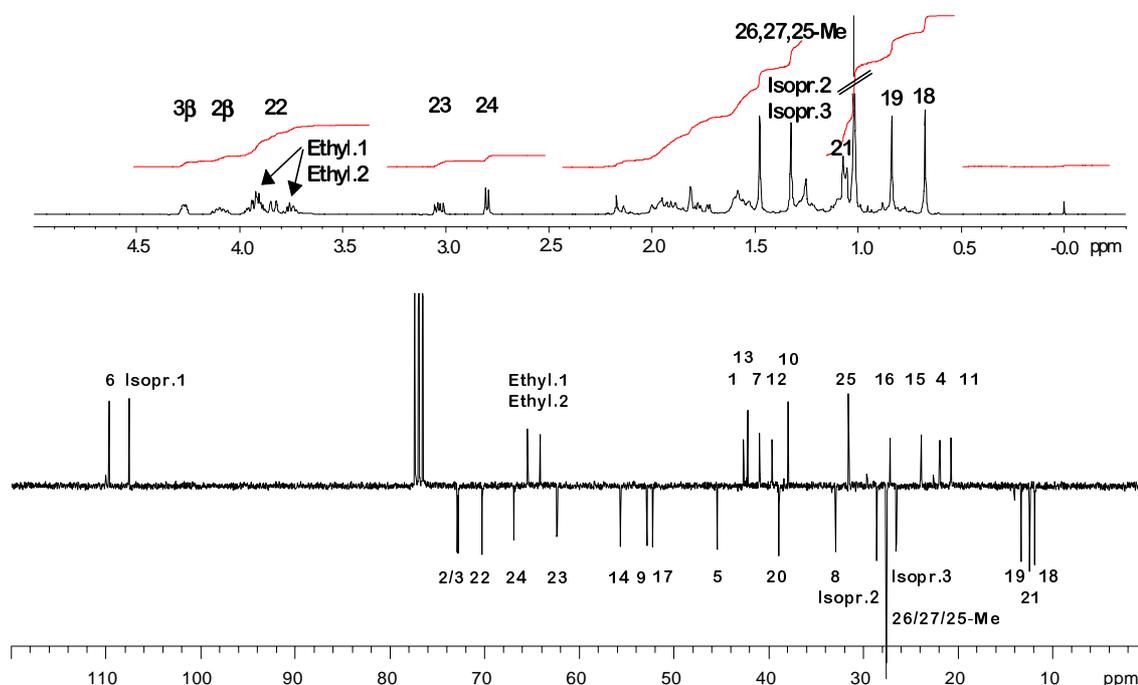


Abbildung 12. <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C-APT NMR-Spektren von Verbindung **55**.

Die anschließende Epoxidöffnung unter Methylierung der 24-Position zu **56** erfolgte unter den üblichen Bedingungen. Die Reaktion verlief sehr langsam, die Umsatzrate lag nach 3 Tagen bei 40%. Bezogen auf umgesetzten Ausgangsstoff beträgt die Ausbeute 34%. Damit konnte gezeigt werden, daß diese Strategie des Seitenkettenaufbaus auch für die 25-methylierten Verbindungen durchführbar ist.

Nach Abspaltung der Schutzgruppen wird aus **56** das freie 25-Methylcastasteron (**57**) erhalten. Die nachfolgende Baeyer-Villiger-Oxidation verläuft im Gegensatz zum 25-Hydroxycastasteron (**33**) glatt und liefert nach Abtrennung des Isolactons durch HPLC 25-Methylbrassinolid (**58**). Der Vergleich mit den Konstanten aus der Literatur [228] zeigt, daß es sich bei **57** und **58** um die gewünschten Zielverbindungen handelt.

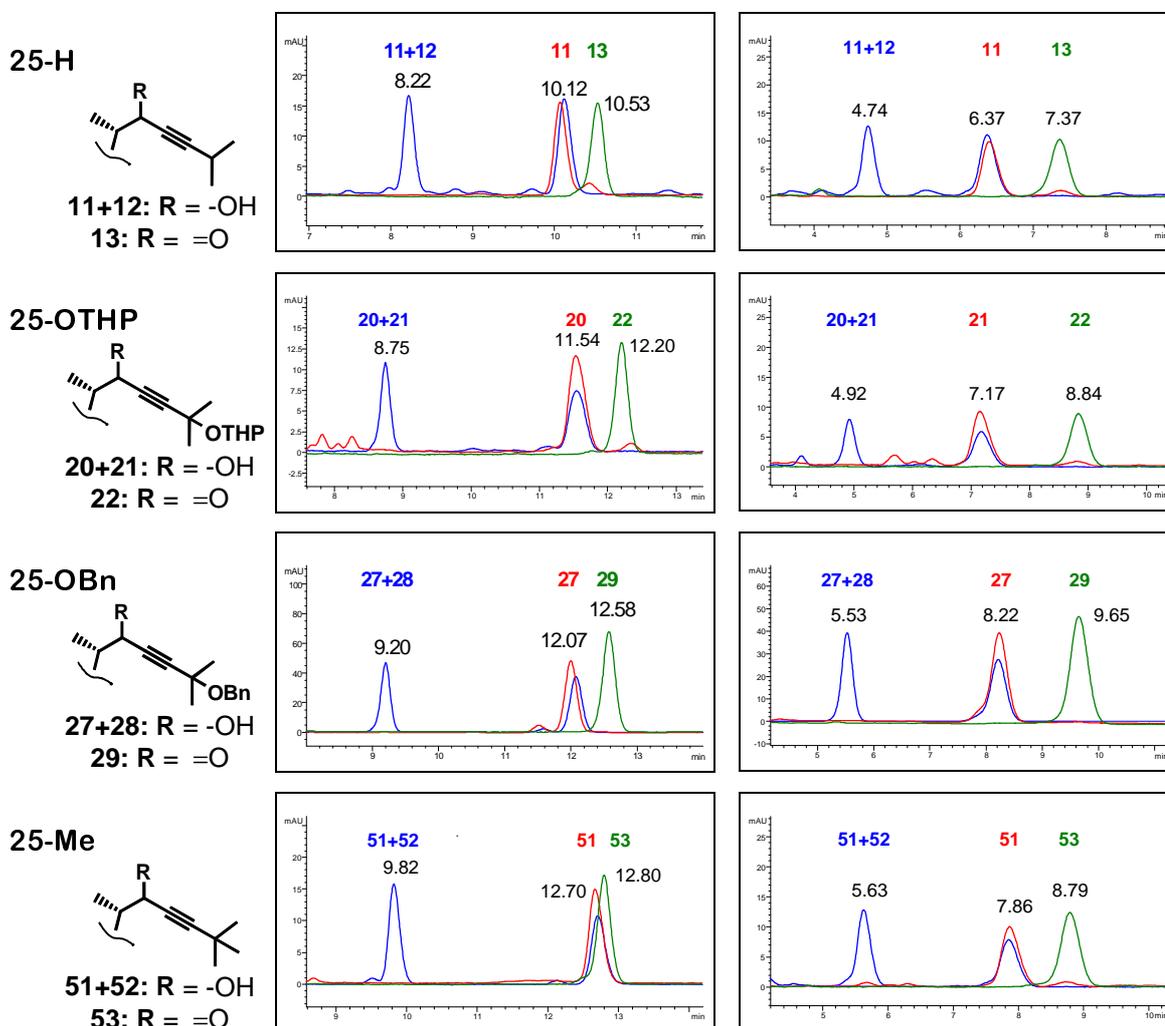
## 3.8. Zur HPLC-Analytik ausgewählter Intermediate

Die HPLC besitzt große Bedeutung für die Isolierung von Brassinosteroiden aus nativen Vorkommen. Aber auch für die Reaktionsverfolgung sowie die Trennung von Syntheseprodukten, insbesondere von Diastereomeren, hat sich die HPLC bewährt. Im folgenden Vergleich soll gezeigt werden, wie sich verschiedene Substitutionen an C-25 auf die Retentionszeiten der Intermediate in der HPLC und die  $R_f$ -Werte im DC auswirken. Untersucht wurden (22*R*)- und (22*S*)-Propargylalkohole sowie 22-Ketone mit folgendem Substitutionsmuster: 25-H, 25-OTHP, 25-OBn und 25-Me (Abbildung 13, Tabelle 2).<sup>9</sup>

HPLC-  
Chromatogramm

YMC ODS, 5  $\mu$ m, 120 A, 250x4.6 mm, 1ml/min,  
MeCN : H<sub>2</sub>O = 95 : 5

MERCK, LiChrospher 100 RP  
18, 5  $\mu$ m, 125x4 mm, 1ml/min,  
MeCN : H<sub>2</sub>O = 80 : 20



**Abbildung 13.** HPLC-Vergleich der 22-Propargylalkohole und 22-Ketone mit unterschiedlicher 25-Substitution (blaue Linie = Gemisch von (22*S*)- und (22*R*)-Alkohol, rote Linie = (22*R*)-Alkohol, grüne Linie = 22-Keton).

<sup>9</sup> Für diesen Vergleich bleibt der Steroidkern weiterhin als 2,3-Acetonid-6-ketal geschützt, damit die Unterschiede in der Seitenkette nicht durch die polare 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Diolgruppe aufgehoben werden.

Die Daten zeigen, daß der (22*S*)-Alkohol jeweils die niedrigste Retentionszeit aufweist, gefolgt vom (22*R*)-Alkohol und dem unpolarerer 22-Keton. Deutlich wird auch der größere Unterschied zwischen (22*S*)- und (22*R*)-Alkohol, während sich (22*R*)-Alkohol und 22-Keton nur wenig unterscheiden (Abbildung 13, Tabelle 2). Die Retentionszeit  $R_f$  wird in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster an C-25 in der Reihe H<OTHP<OBn<Me größer. Ein ähnlicher Zusammenhang wird für das Verhältnis von (22*S*)- zu (22*R*)-Alkohol gefunden. Zwar kann generell von einem 1:1 Verhältnis ausgegangen werden, doch zeigt sich bei detaillierter Betrachtung, daß der Anteil des gewünschten (22*R*)-Alkohols in der gleichen Reihe H>OTHP>OBn>Me abnimmt. Bemerkenswert ist, daß 25-Me einen größeren Einfluß als 25-OTHP oder 25-Bn aufweist.

Wird in derselben Reihe H>OTHP>OBn>Me eine steigende sterische Hinderung und damit eine Abnahme der Reaktivität zugrunde gelegt, so lassen sich auch die experimentiellen Ergebnisse erklären. Während die alkylierende Epoxidöffnung mit R = H das beste Resultat liefert (vgl. 3.3.), wurde bei der Umsetzung mit R = Me in unseren Experimenten nach 3 Tagen nur eine Umsatzrate von 40% erreicht (vgl. 3.7.).

		25-H	25-OTHP	25-OBn	25-Me
(22 <i>S</i> )-OH	$R_f$ -Werte	0.54	0.38	0.44	0.50
	$R_t$ (YMC ODS)	8.22	8.75	9.20	9.82
	$R_t$ (LiChrospher)	4.74	4.92	5.53	5.63
(22 <i>R</i> )-OH	$R_f$ -Werte	0.54	0.38	0.44	0.50
	$R_t$ (YMC ODS)	10.12	11.54	12.07	12.70
	$R_t$ (LiChrospher)	6.37	7.17	8.22	7.86
Verhältnis (22 <i>R</i> ) zu (22 <i>S</i> )		54.0 : 46.0	53.0 : 47.0	49.8 : 50.2	45.8 : 54.2
22-Keto	$R_f$ -Werte	0.64	0.47	0.49	0.53
	$R_t$ (YMC ODS)	10.53	12.20	12.58	12.80
	$R_t$ (LiChrospher)	7.37	8.84	9.65	8.79

**Tabelle 2.** Vergleich der  $R_f$ -Werte (Hexan:EtOAc = 60:40) und Retentionszeiten  $R_t$  (YMC ODS, 5  $\mu$ m, 120 A, 250x4.6 mm, 1ml/min und MERCK LiChrospher 100 RP 18, 5  $\mu$ m, 125x4 mm, 1ml/min) bei unterschiedlicher Substitution der Positionen C-22 und C-25.

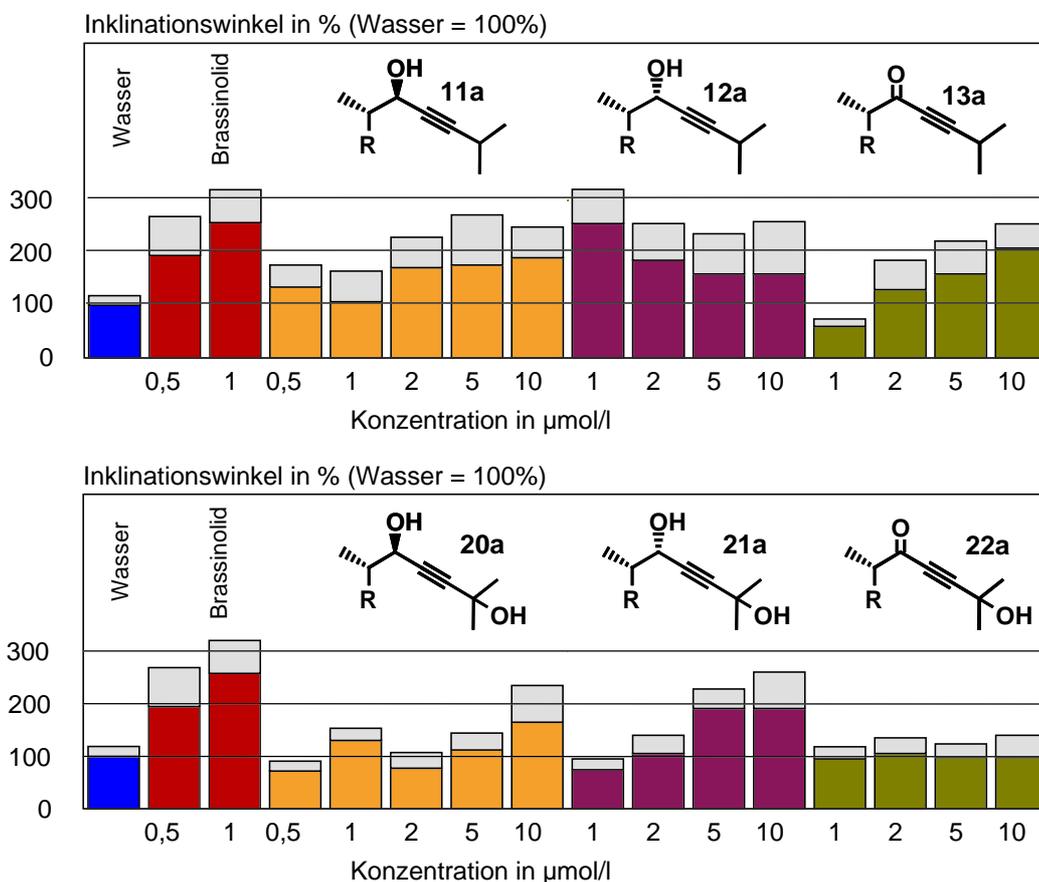
Der Vergleich der  $R_f$ -Werte bestätigt die erwarteten Aussagen. Während (22*S*)- und (22*R*)-Alkohol gleiche  $R_f$ -Werte aufweisen, sind die Ketone jeweils unpolarer. In Abhängigkeit vom Substitutionsmuster an C-25 nimmt der  $R_f$ -Wert in folgender Reihe H>Me>OBn>OTHP ab.

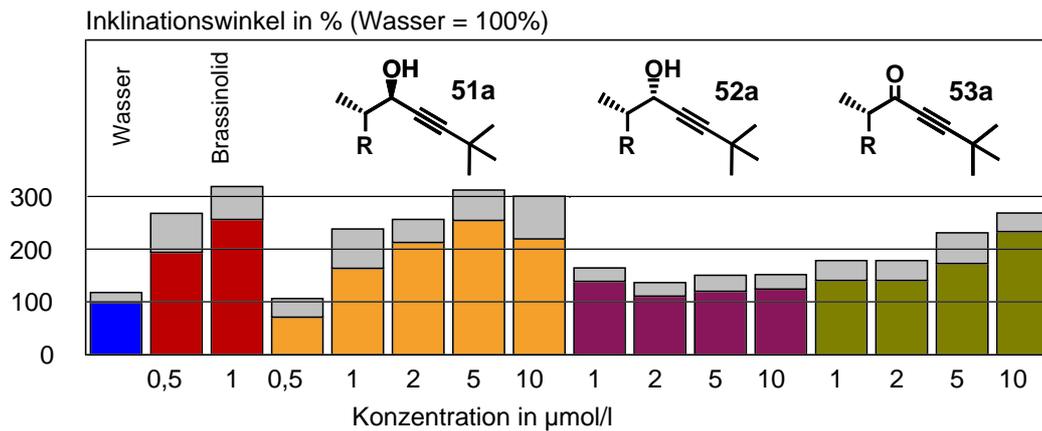
### 3.9. Biotestergebnisse und Struktur-Wirkungsbeziehungen

#### 3.9.1. 22-Propargylalkohole und 22-Ketone als mögliche Inhibitoren der Wachstumsnormalisierung bei den *Arabidopsis*-Mangelmutanten

Von den Ecdysonen ist bekannt, daß bei ihrer Biosynthese das Enzym der C-22-Hydroxylierung, eine Cytochrom P450-abhängige Mono-Oxygenase, durch eine Reihe von Substraten inaktiviert wird, welche in der Seitenkette neben einer Dreifachbindung auch Hydroxyfunktionen enthalten [230,231]. Im Zusammenhang mit diesen Experimenten wurde die mögliche Inhibitorwirkung der in dieser Arbeit synthetisierten Propargylalkohole bzw. 22-Ketone auf die Bioaktivität der Brassinosteroide untersucht. Für diese Versuche werden Gemische aus den potentiellen Inhibitoren und den aktiven Brassinosteroiden 24-Epicastasteron, 24-Epibrassinolid [138,139] bzw. Brassinolid (**18**) verwendet. Bei einer Inhibierung wird erwartet, daß die Bioaktivität der Gemische im Vergleich zu den Brassinosteroiden kleiner ausfällt bzw. keine Bioaktivität beobachtet wird.

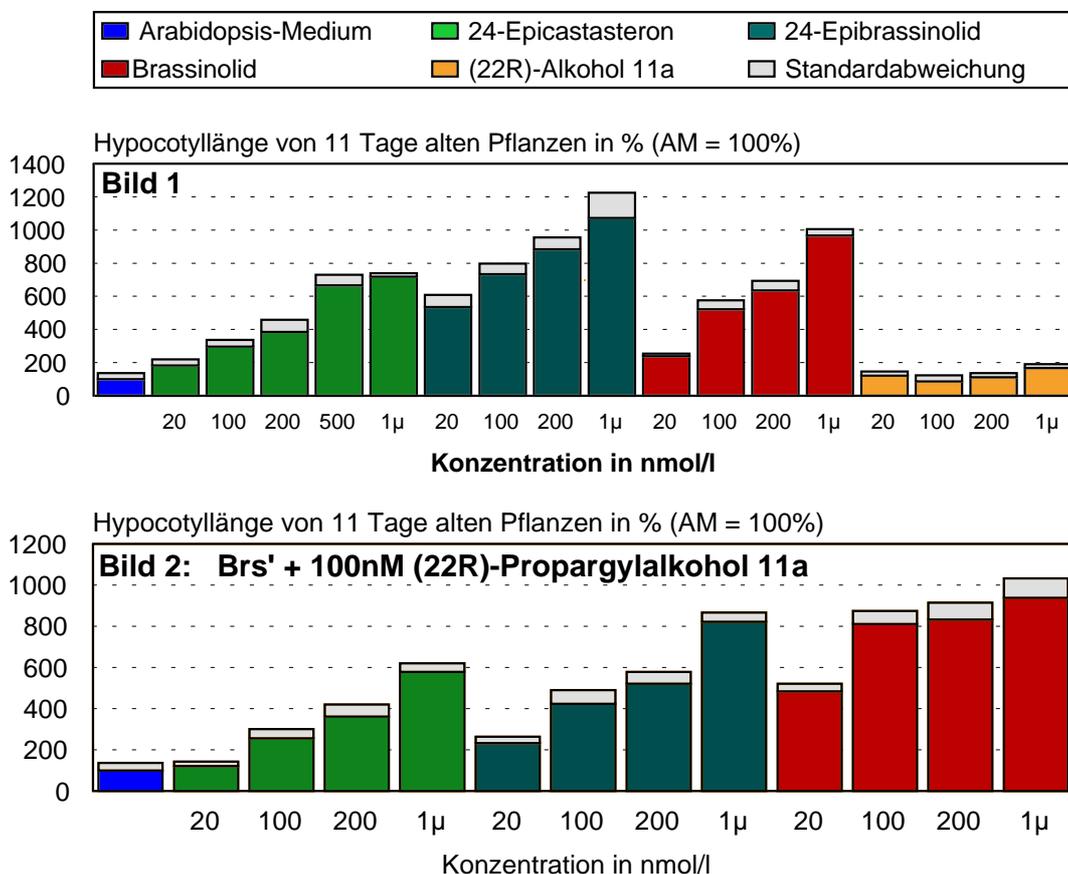
Dazu werden die (22*R*)- und (22*S*)-Propargylalkohole **11**, **12**, **20**, **21**, **51** und **52** bzw. die entsprechenden Ketone **13**, **22** und **53** durch Abspalten der Schutzgruppen in die freien Verbindungen **11a**, **12a**, **13a**, **20a**, **21a**, **22a**, **51a**, **52a** und **53a** überführt, chromatographisch durch HPLC gereinigt und danach im RLI-Test auf ihre biologische Aktivität getestet. Dabei stellte sich heraus, daß bei höheren Konzentrationen eine geringe Eigenaktivität meßbar ist (Abbildung 14).

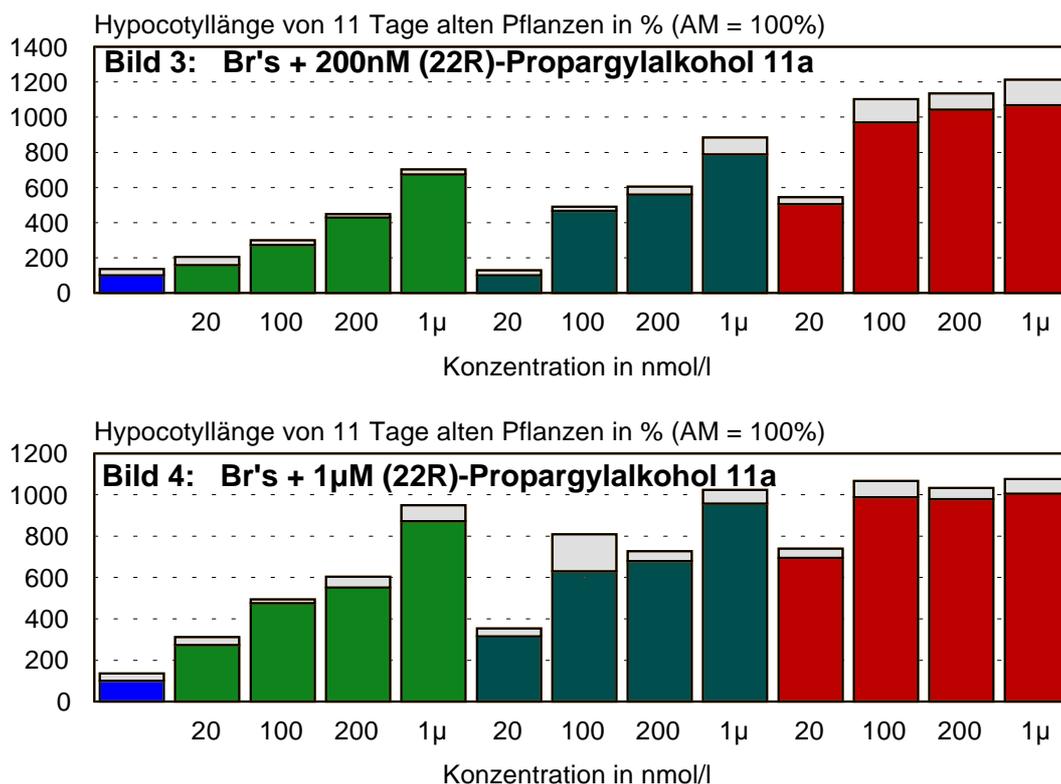




**Abbildung 14.** Biologische Aktivität der (22*R*/22*S*)-Propargylalkohole und 22-Ketone.

Zur Untersuchung einer möglichen Inhibitorwirkung wurden Gemische aus 20, 100, 200 bzw. 1000 nmol/l 24-Epicastasteron/24-Epibrassinolid/Brassinolid und je 100, 200 bzw. 1000 nmol/l der verschiedenen (22*R*/22*S*)-Propargylalkohole bzw. 22-Ketone eingesetzt. Nach Auswertung von RLI- und AraMH-Test (getestet wurden Wildtyp und Mutanten *cbb1* sowie *cbb3*) konnte eine Inhibierung der Wachstumsnormalisierung nicht nachgewiesen werden. In Abbildung 15 sind die Ergebnisse dieser Untersuchung am Beispiel der Mutante *cbb 3* (AraMH-Test) aufgeführt. Während Bild 1 die Bioaktivitäten der einzelnen Komponenten zeigt, wird in den Bildern 2-4 die Verwendung von verschiedenen Gemischen aus bioaktiven Brassinosteroiden und der Testsubstanz **11a** mit einer in der 25-Position unsubstituierten (22*R*)-Propargyl-Seitenkette dargestellt.



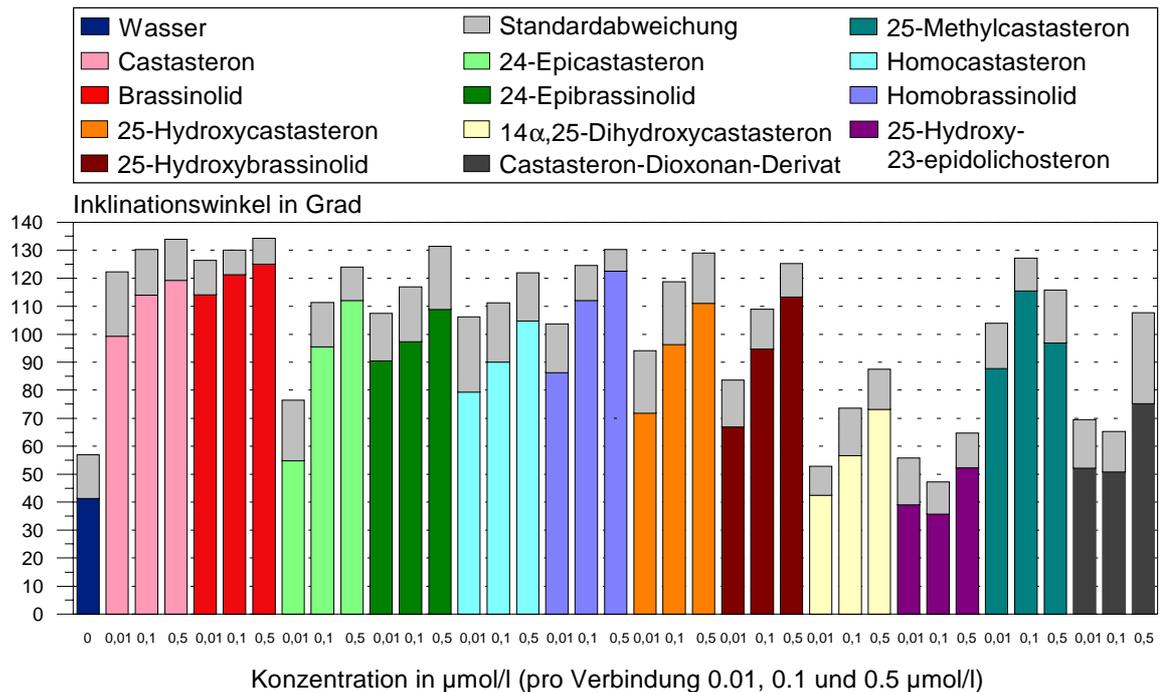


**Abbildung 15.** Untersuchung möglicher Inhibitorwirkung des (22R)-Propargylalkohols **11a** am Beispiel der *Arabidopsis*-Brassinosteroid-Mangelmutante *cbb3*.

### 3.9.2. RLI-Test der Zielverbindungen und anderer bioaktiver Brassinosteroide

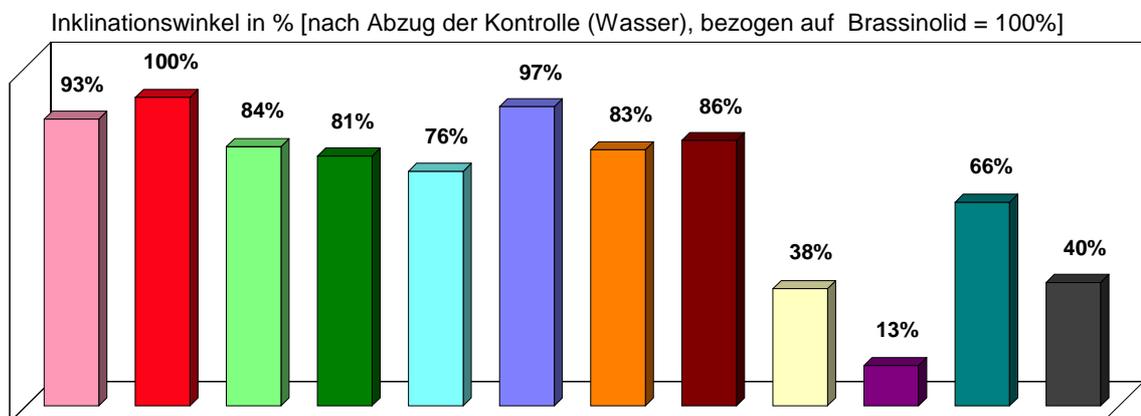
Nachdem in den Kapiteln 3.2.-3.8. die Synthese der Zielverbindungen und ihre Charakterisierung ausführlich diskutiert wurde, soll entsprechend der Zielstellung die Bioaktivität der synthetisierten Verbindungen in diesem Abschnitt beschrieben werden. Folgende Verbindungen wurden deshalb im RLI-Test untersucht: Castasteron (**17**) und Brassinolid (**18**) (vgl. 3.3.), 25-Hydroxycastasteron (**33**) (vgl. 3.4.2. u. 3.6.1.) und 25-Hydroxybrassinolid (**50**) (vgl. 3.6.2.),  $14\alpha,25$ -Dihydroxycastasteron (**46**) (vgl. 3.6.1.), 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**) (vgl. 3.5.3.), das Castasteron-Derivat mit annelierter Dioxonan-Seitenkette (**26**) (vgl. 3.4.2.), sowie 25-Methylcastasteron (**57**) (vgl. 3.7.). Zusätzlich wurden 24-Epicastasteron und 24-Epibrassinolid [139], sowie Homocastasteron und Homobrassinolid [232] als weitere bioaktive Br's in den Biotest einbezogen.

Für jede Verbindung wurden drei Konzentrationen getestet: 0.01, 0.1 und 0.5  $\mu\text{mol/l}$  (vgl. 2.4.1.). Nach einer Inkubationszeit von 48 h wird der Inklinationswinkel gemessen. Die graphische Darstellung der Durchschnittswinkel erfolgt in Abbildung 16. Die drei Konzentrationen wurden, von links nach rechts mit der kleinsten beginnend, nebeneinander aufgetragen. Aus dieser Abbildung ist zu erkennen, daß bei ansteigender Konzentration auch die Bioaktivität zunimmt [Ausnahme 25-Methylcastasteron (**57**)] und daß Brassinolid (**18**) schon bei 0.01  $\mu\text{mol/l}$  eine sehr hohe Bioaktivität besitzt.



**Abbildung 16.** Inklinationswinkel der Zielverbindungen und anderer Brassinosteroide.

Nach Abzug der Kontrolle wird die Bioaktivität von Brassinolid (**18**) gleich 100% gesetzt und die Bioaktivität der anderen Verbindungen auf Brassinolid bezogen (Abbildung 17). Der Vergleich bei einer Konzentration von 0.5 µmol/l zeigt, daß 25-Hydroxycastasteron (**33**) und die anderen Zielverbindungen eine kleinere Bioaktivität als Brassinolid (**18**) aufweisen. Dennoch müssen 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 25-Hydroxybrassinolid (**50**) zu den hochwirksamen Brassinosteroiden gezählt werden, da sie in diesem Vergleich ähnliche Bioaktivitäten zeigen wie die Vertreter der 24-Epi- und der Homo-Reihe. Eine deutlich verringerte Bioaktivität wird für 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasteron (**46**) und das Castasteron-Dioxonan-Derivat **26** beobachtet. Die um eine Zehnerpotenz verringerte Bioaktivität von 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**) ist ein weiteres Indiz für eine (23*S*)-Konfiguration, da der Aktivitätsverlust gegenüber 25-Hydroxycastasteron (**33**) nur durch die Einführung einer 24(28)-Methylengruppe nicht erklärt werden kann.



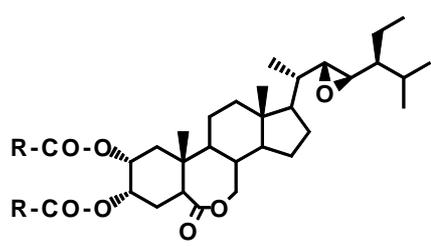
**Abbildung 17.** Bioaktivität im RLI-Test bei 0.5 µmol/l (Legende vgl. Abbildung 16).

### 3.10. Brassinosteroide mit Langzeitwirkung - TS303 und Isomere

Von entscheidender Bedeutung für die landwirtschaftliche Anwendung ist die Stabilität der Brassinosteroide in der Pflanze. Neben Bemühungen zur optimalen Formulierung von Brassinosteroiden für die Felderprobung wurde daher in den letzten Jahren auch nach Verbindungen mit langanhaltender (long-lasting) Aktivität gesucht [74].

Eine Möglichkeit, zu Verbindungen mit solchen Eigenschaften zu gelangen, beruht auf der zeitweiligen Blockierung der für die biologische Aktivität wichtigen Diolfunktionen im A-Ring und in der Seitenkette. Und zwar in der Art, daß durch den Stoffwechsel der Pflanze diese Blockierung nach einiger Zeit aufgehoben werden kann. Dadurch werden die biologisch aktiven Brassinosteroide frei und die wachstumsregulatorische Wirkung setzt in Abhängigkeit von der Zeit ein. Die Effizienz der Anwendung könnte durch die Applikation eines Mehrkomponentensystems verschieden inaktivierter Brassinosteroide mit einem unterschiedlichen Zeitrahmen der Reaktivierung erheblich erweitert werden.

Eine solche Verbindung, genannt TS303, zeigt günstige Effekte bei Keimung, Frucht-, Wurzelbildung und Ertrag für eine Anzahl von Nutzpflanzen [70,77,78]. Hinter dieser Laborbezeichnung verbirgt sich (22*R*,23*R*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dipropionyloxy-22,23-epoxy-24-ethyl-B-homo-6a-oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (**65**). Für die Wirkung ist unter anderem die Länge der Alkylkette des Esters entscheidend. Obwohl ebenfalls positive Einflüsse mit anderen Kettenlängen beobachtet wurden, besitzt TS303 die größte Wirksamkeit (Abbildung 18). Ein ähnlicher 22,23-Epoxyester mit Ergostanskelett (24*R*)-Methyl wurde ebenfalls beschrieben [233,234].



Fruchtansätze im ersten Blütenstand von Tomate drei Wochen nach Besprühen mit 0.01 ppm Testsubstanz				
	Wasser	Brassinolid	Acetonid	R = CH <sub>3</sub> -
	0.4	1.4	2.9	2.7
	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -(TS303)	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> -	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> -
	3.3	3.2	2.9	3.0

**Abbildung 18.** Einfluß der TS-Verbindungen auf den Fruchtansatz von Tomate [76].

Offensichtlich wird aus diesem inaktiviertem Brassinosteroidderivat in der Pflanze durch hydrolytische Spaltung der Propionsäureester im A-Ring und durch Öffnung des Epoxidringes 28-Homobrassinolid freigesetzt. 28-Homobrassinolid ist im Biotest nicht ganz so aktiv wie Brassinolid (**18**), der wesentlich geringere Aufwand in der Synthese von **65** rechtfertigt jedoch diesen Aktivitätsabfall. Denn für die Synthese von **65** ausgehend von Stigmasterol (**1**) ist kein Seitenkettenaufbau notwendig, da Stigmasterol (**1**) die Homobrassinolid kennzeichnende Ethylgruppe bereits in der richtigen Konfiguration enthält.

### 3.10.1. Synthese, Reinigung und Analytik

Die Darstellung des Ausgangsstoffes **6** aus Stigmasterol (**1**) über **5** in fünf Stufen wurde bereits bei der Synthese des 22-Aldehydes **9** besprochen (vgl. 3.2.). Um **65** zu erhalten, müssen noch drei Funktionalisierungen vorgenommen werden: Die Epoxidation der Seitenkette, die Lactonisierung des B-Ringes und die Veresterung des 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Diols. Während die Veresterung nur ein Produkt liefert, verläuft die Epoxidation nicht völlig stereoselektiv. So wird neben dem gewünschten (22*R*,23*R*)- auch ein Anteil (22*S*,23*S*)-Epoxid erhalten. Untersuchungen von Fuendjiep *et al.* an derselben Seitenkette lieferten bei der Epoxidation mit MCPBA ein 1:1 Gemisch [235], von Nakane *et al.* wurde auch ein Verhältnis (*R,R*):(*S,S*)=5:3 beschrieben [191]. Nakane *et al.* konnte die Konfiguration der Epoxide durch Addition von HBr und Analyse der entstehenden Bromhydrine bestimmen. In unserem Fall wurde die Konfiguration durch Vergleich mit den NMR-Daten dieser Publikation ermittelt.

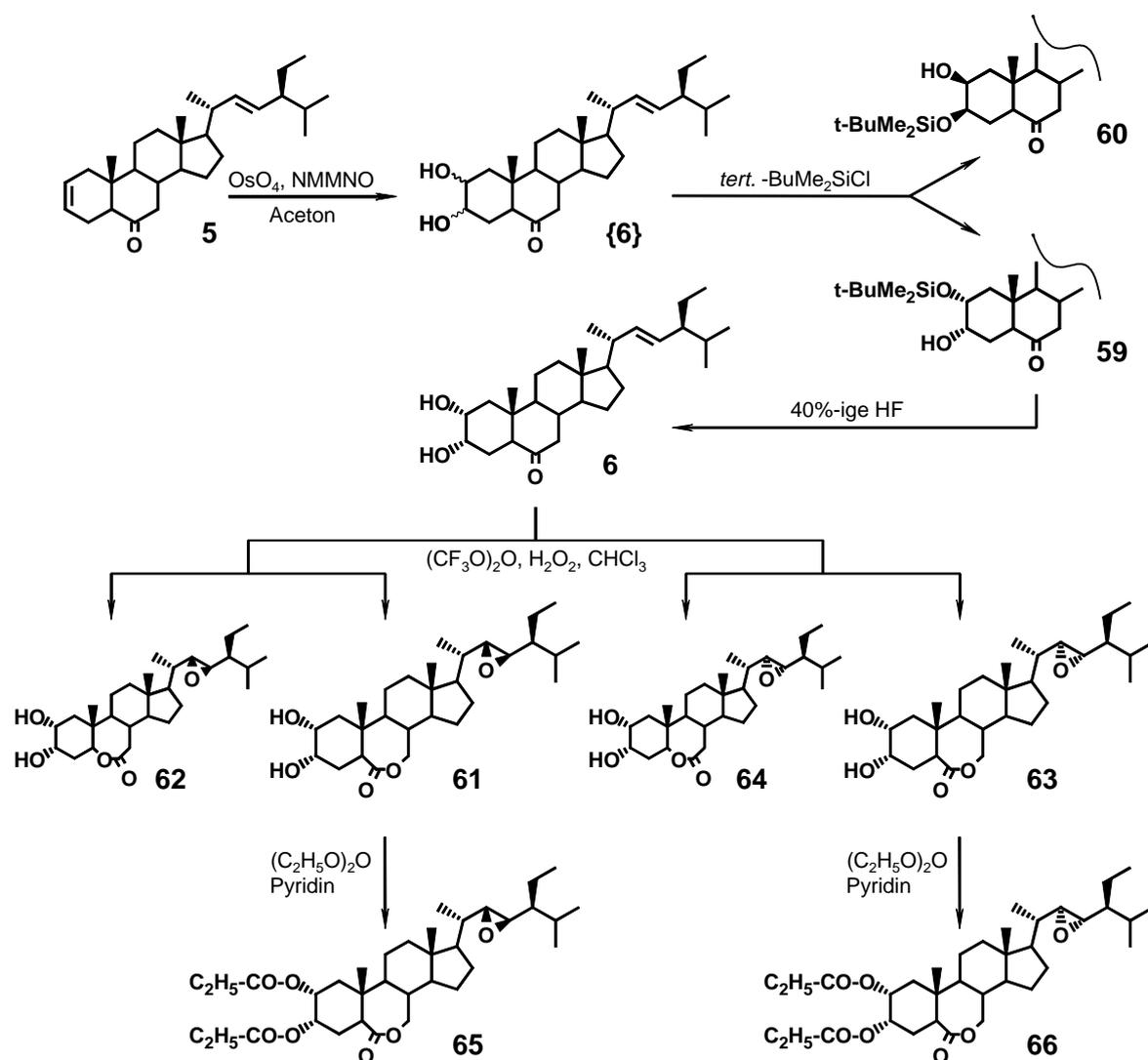
Die Lactonisierung durch Baeyer-Villiger-Oxidation liefert zwar das gewünschte Lacton als Hauptprodukt, es werden jedoch auch ca. 10% Isolacton gebildet (vgl. 3.3.). Eine weitere Diastereomerenbildung fand bisher ebenfalls kaum Berücksichtigung. Obwohl eine sterische Abschirmung der  $\beta$ -Seite durch die angulare Methylgruppe an C-10 erfolgt, werden bei der Dihydroxylierung der  $\Delta^2$ -Doppelbindung von **5** neben 90% 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Diol auch 10% 2 $\beta$ ,3 $\beta$ -Diol gebildet (vgl. 3.2.).

Ohne Diastereomerentrennung wird deshalb nach der Dihydroxylierung mit OsO<sub>4</sub>, der Epoxidation mit MCPBA und gleichzeitiger Lactonisierung Verbindung **61** zusammen mit einer Vielzahl stereoisomerer Nebenprodukten erhalten. Von Takatsuto *et al.* wurde eine Reindarstellung der Diastereomere jedoch nicht beschrieben [77,114,233].

Im Vordergrund dieser Untersuchungen steht deshalb die Reinigung von **65** und die Charakterisierung der isomeren Verbindungen, wie z.B. Epoxid **66**. Gleichzeitig sollen die bisher nicht beschriebenen Zwischenstufen **61** und **63** gewonnen werden. Anschließend soll die Bioaktivität der isomeren Epoxide **61** und **63** mit inaktivierter Seitenkette und ebenso die Wirkung der isomeren Ester-Epoxide **65** und **66** mit zusätzlicher Inaktivierung des A-Ringes untersucht werden. Diese vier Strukturen lassen bei nur kleinen chemischen Veränderungen verschiedene Bioaktivitäten erwarten. Außerdem kann gleichzeitig der Einfluß der einzelnen Inaktivierungsschritte untersucht werden.

Durch die gleichzeitige Testung dieser strukturell ähnlichen Brassinosteroid-Analoga **61**, **63**, **65** und **66** im Reis-Lamina-Inklinations- und *Arabidopsis*-Mangelmutanten-Hypocotyl-längentest wird erstmals untersucht, ob die Bioaktivitäten dieser sehr unterschiedlichen Testsysteme qualitativ und quantitativ vergleichbar sind. Die Auswirkungen der Brassinosteroide auf Monocotyle (einkeimblättriger Reis, *Oryza sativa* L. cv. Koshihikari) und Dicotyle (zweikeimblättriges Ackerunkraut, *Arabidopsis thaliana*) können so überprüft werden. Voraussetzung ist allerdings eine hohe Reinheit der Testsubstanzen.

Ausgehend vom Dienon **5** wird deshalb das diastereomere Gemisch **{6}** dargestellt und anschließend mit *tert.*-Butyldimethylsilylchlorid umgesetzt (Schema 30). Es werden zwei Silylierungsprodukte **59** und **60** erhalten, da die räumlich anspruchsvolle Schutzgruppe die Bildung eines *bis*-Silylderivates verhindert. Die Analyse dieser Verbindungen zeigt, daß nur die äquatoriale Hydroxygruppe des Diols umgesetzt wird, während die axiale nicht reagiert. Es werden daher nur der  $2\alpha$ -*tert.*-Butyldimethylsilylether **59** und der  $3\beta$ -*tert.*-Butyldimethylsilylether **60** erhalten, die sich durch Chromatographie an Kieselgel trennen lassen. Danach wird der *tert.*-Butyldimethylsilylether von **59** mit 5%-iger Flußsäure gespalten und das gewünschte  $2\alpha,3\alpha$ -Diol **6** enantiomerenrein gewonnen.



**Schema 30.** Modifizierte Synthese von **65** (TS303).

Wird **6** anschließend nach Baeyer-Villiger mit Trifluorperessigsäure umgesetzt, so wird neben dem Lacton im B-Ring auch die Epoxygruppe in der Seitenkette eingeführt. Bei dieser Oxidation werden neben den Lactonen **61** ( $22R,23R$ ) und **63** ( $22S,23S$ ) auch die zwei Isolactone **62** ( $22R,23R$ ) und **64** ( $22S,23S$ ) erhalten. Die Lactone bzw. Isolactone

unterscheiden sich jeweils durch die Konfiguration ihrer Epoxide in der Seitenkette. Lacton und Isolacton werden bei dieser Oxidation in einem Verhältnis von ca. 9:1 erhalten. Dagegen verläuft die Bildung der (22*R*,23*R*)-Epoxide **61/62** und der (22*S*,23*S*)-Epoxide **63/64** nicht stereoselektiv. Deshalb wird jeweils ein ca. 1:1 Verhältnis von **61:63** bzw. **62:64** gefunden (Abbildung 19).<sup>10</sup> Durch diese unspezifische Epoxidation wird auch das normalerweise unerwünschte (22*S*,23*S*)-Epoxid **63** in ausreichender Menge gewonnen. Dadurch ist die Untersuchung der Bioaktivität von den beiden Epoxiden **61** und **63** möglich. Die Trennung der vier Reaktionsprodukte erfolgte mit Hilfe der HPLC (Abbildung 19). Die so erhaltenen Lactone **61** und **63** werden im Anschluß mit Propionsäureanhydrid zu den gewünschten Propionylderivaten **65** und **66** verestert und noch einmal gereinigt (Schema 30).

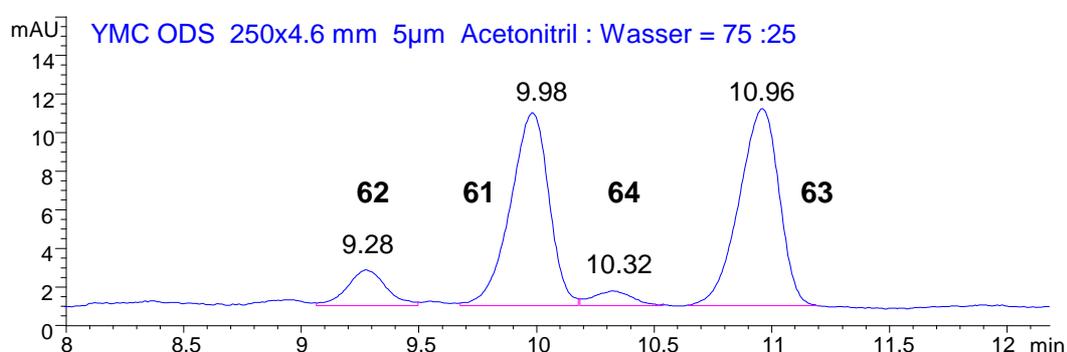


Abbildung 19. HPLC-Trennung der Reaktionsprodukte von **6** mit Trifluorperessigsäure.

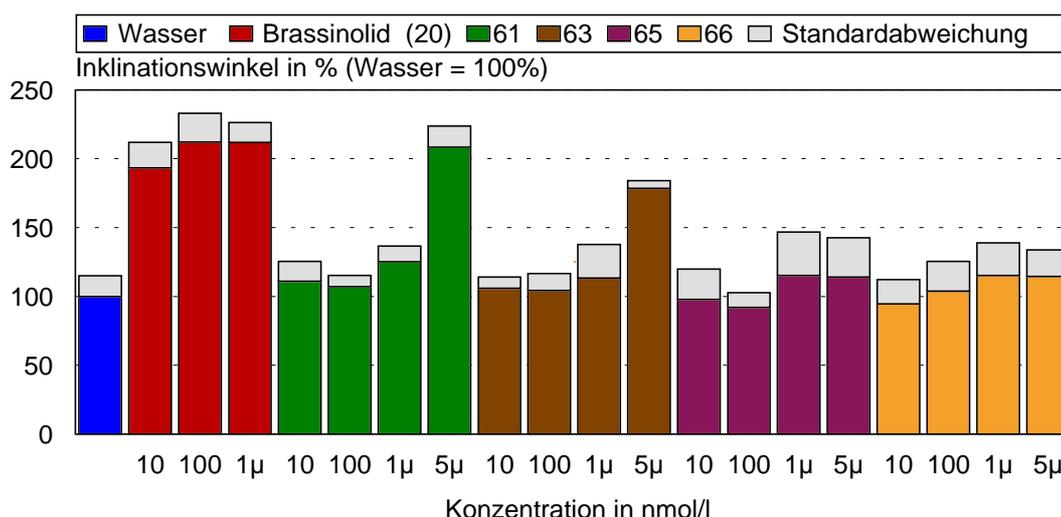
### 3.10.2. Biologische Aktivität von TS303 und weiteren Isomeren im Reis-Lamina-Inklinations- und *Arabidopsis*-Mangelmutanten-Hypocotylängentest

Die so synthetisierten Brassinosteroid-Analoga **61** und **63**, sowie die Derivate **65** und **66** wurden in beiden Testsystemen untersucht. Da Isolactone bekannterweise keine Bioaktivität besitzen [21], wurden die Verbindungen **62** und **64** nicht getestet. Im Reistest wurden von jeder Substanz 4 Konzentrationen verwendet. Im *Ara*MH-Test konnten nur jeweils 3 Konzentrationen untersucht werden, um die Konformität der Proben bei gleichzeitiger Untersuchung von Wildtyp, *cbb1* und *cbb3* zu gewährleisten.

<sup>10</sup> Ebenso kann **6** auch mit MCPBA oxidiert werden [233]. Obwohl die Stereoselektivität der Epoxidation höher sein soll, wird auch hier das unerwünschte (22*S*,23*S*)-Epoxid gebildet. Die gleichzeitige Lactonisierung mit MCPBA verläuft sehr langsam, so daß ein erheblich höherer Zeitaufwand gegenüber Trifluorperessigsäure die Folge ist. Neben den Lactonen **61** und **63** entstehen ebenfalls die Isolactone **62** und **64**. Die Trennung der Enantiomere ist daher auch bei Einsatz von MCPBA erforderlich.

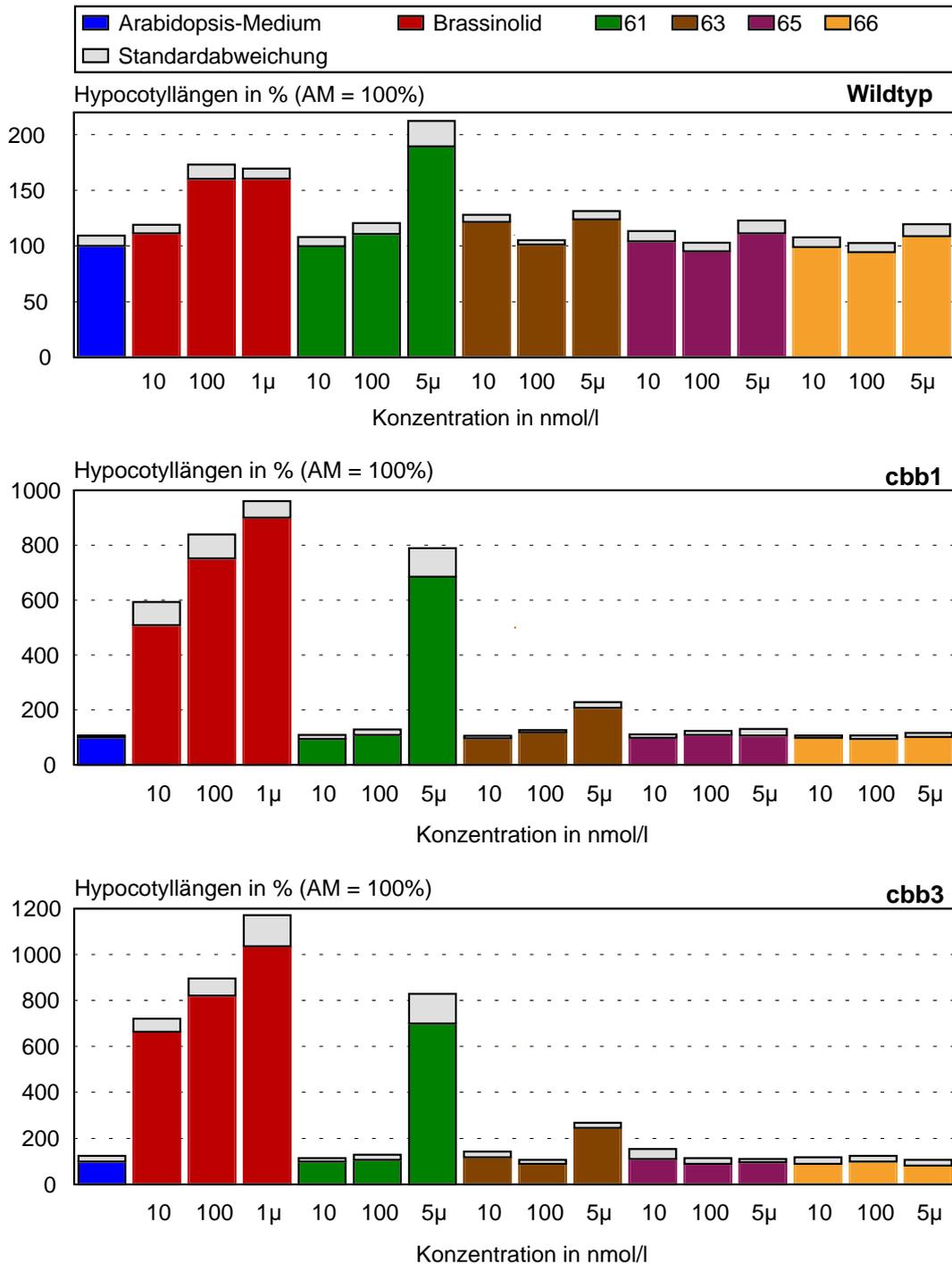
Als Standard wurde Brassinolid (**18**) verwendet. Für den Reis und den *Arabidopsis*-Wildtyp wurde mit einer Konzentration von 1  $\mu\text{mol/l}$  **18** keine höhere Wirkung gegenüber 100  $\text{nmol/l}$  **18** erzielt (Abbildung 20 und 21). Dagegen ist bei den Mutanten *cbb1/cbb3* eine Aktivitätserhöhung bei Verwendung von 1  $\mu\text{mol/l}$  **18** noch deutlich erkennbar.

Eine biologische Aktivität ist bei den Epoxiden **61** und **63** erst im mikromolaren Bereich meßbar. Der quantitative Vergleich der Bioaktivitäten ist nur eingeschränkt möglich, da nicht bei einer Konzentration verglichen werden kann (Reis/Wildtyp/*cbb1*: 5  $\mu\text{M}$  **61** entsprechen ca. 100  $\text{nM}$  BL, Faktor 50; *cbb3*: 5  $\mu\text{M}$  **61** entsprechen ca. 10  $\text{nM}$  BL; Faktor 100), in der Tendenz ist die erheblich verringerte Aktivität der Derivate jedoch offensichtlich. Deutlich erkennbar ist auch der Abfall der Aktivität, wenn sich die Konfiguration vom (22*R*,23*R*)- zum (22*S*,23*S*)-Epoxid ändert (**63** weist bei *Arabidopsis* nur 23% und bei Reis 72% der Aktivität von **61** auf). Bei den Mutanten ist die biologische Aktivität stärker ausgeprägt als beim Reis und *Arabidopsis*-Wildtyp, da diese durch den Brassinosteroid-Mangel wesentlich sensibler reagieren (Abbildung 20 und 21).



**Abbildung 20.** Reis-Lamina-Inklinationstest.

Für die Messung einer verzögerten Aktivität, wie sie TS303 als Depotform erfordert, ist der RLI-Test mit einer Inkubationszeit von nur 48 h nicht besonders geeignet. Die Verbindungen **65** und **66** zeigen im RLI-Test keine Bioaktivität (Abbildung 20). Dagegen wird im *AraMH*-Test das Pflanzenmaterial über einen Zeitraum von elf Tagen mit den Testsubstanzen behandelt. Aber auch nach dieser Zeit konnte keine signifikante Wirkung für **65** und **66** gemessen werden (Abbildung 21). Die Hydrolyse des Epoxides und die Spaltung der Ester tritt nach diesen Ergebnissen offensichtlich weder nach 48 h im RLI-Test noch nach 11 Tagen im *AraMH*-Test ein. Da aber der *AraMH*-Test durch das verwendete Ganzpflanzensystem auch über einen Zeitraum von mehreren Wochen realisierbar ist, bietet dieses System gute Voraussetzungen für weitere Untersuchungen.



**Abbildung 21.** *Arabidopsis*-Hypocotyllängentest (Wildtyp, Mutante *cbb1* und *cbb3*).

Der qualitative Vergleich der Bioaktivitäten der Brassinosteroid-Analoga **61**, **63**, **65** und **66** aus RLI- und *AraMH*-Test zeigt, daß die Wirkung der getesteten Brassinosteroide bei Monocotylen und Dicotylen vergleichbar ist. Unterschiede in der Aufnahme waren bei diesen Untersuchungen nicht meßbar.

## 4. Experimentieller Teil

### 4.1. Allgemeine Untersuchungsverfahren

**Schmelzpunkte:** **Heiztischmikroskop, Wägetechnik Rapido**

Die Werte wurden auf einem Heiztischmikroskop nach BOETIUS der Firma Zeiss bestimmt und sind nicht korrigiert.

**Optische Drehung:** **Polartronic D, Schmidt und Hensch**

Die spezifische Drehung  $[\alpha]_D$  wurde mit einer Natriumlampe ( $\lambda = 589 \text{ nm}$ ) bestimmt und wird in der Einheit  $10 \text{ cm}^{-1} \text{ deg cm}^2 \text{ g}^{-1}$  angegeben. Die Konzentration  $c$  wird in mg/ml angegeben.

**IR-Spektren:** **Bruker IFS 28**

Die Verschiebung wird in  $\text{cm}^{-1}$  angegeben, die Intensitäten werden durch die Buchstaben s (stark), m (mittel), w (schwach) abgekürzt. Wenn nicht anders angegeben, erfolgten die Messungen in Nujol.

**UV-Spektren:** **Uvikon 941, Kontron Instruments**

Für die Messung wird im Bereich von 190-370 nm eine Deuterium Lampe verwendet. 3 mg der zu vermessenden Probe wurden in jeweils 3 ml Lösungsmittel aufgenommen und analysiert. Als Lösungsmittel wurde in den meisten Fällen Methanol verwendet. Die Absorption  $\lambda_{\text{max}}$  wird in nm angegeben.

**EI-Massenspektren:** **AMD 402 (AMD Intrecta GmbH) EI 70 eV**

Mit diesem Gerät wurden alle EI- und HR-Spektren aufgenommen.

**ESI-Massenspektren:** **Finigan MAT TSQ 7000**

Für die ESI-MS und ESI-MS/MS Messungen wurden folgende Parameter verwendet: Elektrospray Spannung 4.5 kV (positive Ionen), 3.5 kV (negative Ionen); Kapillartemperatur 200°C; Gas: Stickstoff. Gekoppelt wurde das ESI-MS mit dem HPLC-System **Micro-Tech Ultra-Plus MicroLC** mit einer RP18-Säule (4  $\mu\text{m}$ , 1x100 mm, SEPSERV). Folgende HPLC Bedingungen wurden verwendet: 1. Freie Brassinosteroide: Eluent  $\text{H}_2\text{O}$ : MeCN 13:7 (mit 0.2% AcOH); 2. Dansylaminophenylboronate: MeCN: $\text{H}_2\text{O}$  1:1 (mit 0.2% AcOH) erhöht auf 9:1 innerhalb von 15 min; Flußrate 70  $\mu\text{l min}^{-1}$ .

**GC-MS:** **MD 800, Fision Instruments**

Verwendet wurde eine "Fused silica kapillare"-Säule DB-5MS, Innendurchmesser 0.32 mm, Filmdicke 0.25  $\mu\text{m}$ . Als Gas wurde Helium benutzt, die Fließgeschwindigkeit betrug 1.3 ml/min. Die Säulentemperatur betrug bei der Injektion 170 °C, mit einer Rate von 30 °C/min wurde die Säule nach dem Start auf 270 °C aufgeheizt. Die Detektion erfolgte durch den Totalionenstrom (TIC).

**Elementaranalyse: LECO CHNS-239**

Für die C und H Analyse wurde obengenanntes Gerät verwendet.

**<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Spektren: Varian 'UNITY 500' und 'GEMINI 300'**

Die Messung der <sup>1</sup>H und 2D (DQFCOSY, NOESY, GHSQC, GHMBC) NMR Spektren erfolgte mit TMS als internen Standard, die chemischen Verschiebungen  $\delta$  der <sup>13</sup>C NMR Spektren wurden gegen deuteriertes Chloroform als internen Standard bestimmt. Die Kleinbuchstaben haben folgende Bedeutung: s = Singulett, br s = breites Singulett, d = Duplett, dd = doppeltes Duplett, t = Triplet, m bzw. ohne Kennzeichnung = Multiplet. Die Angabe der Kopplungskonstanten *J* erfolgt in Herz. Einige Proben für die <sup>1</sup>H-NMR (499.83 bzw. 300.235 MHz) wurden vor der Messung mit deuterierter Essigsäure geschüttelt, neben <sup>13</sup>C NMR Übersichtsspektren (125.7 MHz) wurden APT- und DEPT-Spektren aufgenommen.

**HPLC: Knauer**

analytisch: MERCK, LiChrospher 100 RP 18, 5  $\mu$ m, 125x4 mm I.D., 1ml/min,  
UV-Detektor 210 nm  
YMC-Pack R&D ODS, S-5  $\mu$ m, 120 A, 250x4.6 mm I.D., 1ml/min,  
UV-Detektor 210 nm o. RI-Detektor

präparativ: MERCK, LiChrospher 100 RP 18, 10  $\mu$ m, 250x10 mm, 3 ml/min,  
UV-Detektor 210 nm  
YMC-Pack R&D ODS, S-5  $\mu$ m, 120 A, 150x20 mm I.D., 5ml/min,  
UV-Detektor 210 nm o. RI-Detektor  
YMC-Pack R&D ODS, S-5  $\mu$ m, 120 A, 250x20 mm I.D., 10ml/min,  
UV-Detektor 210 nm o. RI-Detektor

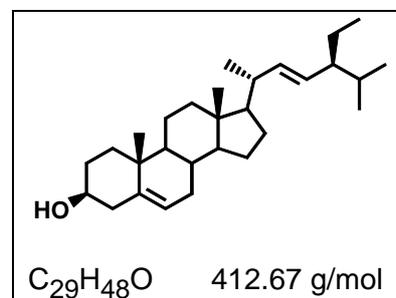
**Chromatographie: Kieselgele der Firma Merck (Darmstadt)**

Für analytische Dünnschichtchromatographien (DC) wurden Kieselgel-Fertigplatten F<sub>254</sub> (Schichtdicke 0,2 mm) mit den Laufmittelsystemen *n*-Hexan/ EtOAc und CHCl<sub>3</sub>/MeOH (mit unterschiedlichen Gradienten) verwendet. Präperative Dünnschichtchromatographie wurde mit PSC-Fertigplatten Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Schichtdicke 0,5 oder 1 mm) durchgeführt. Für Trennungen mittels Flash-Chromatographie wurde MERCK Kieselgel 60 (Korngröße 0,040-0,063 mm, 230-400 mesh ASTM) benutzt. Die Säulen wurden mit Überdruck bis zu einem Bar betrieben und der Trennverlauf wurde in allen Fällen durch DC verfolgt.

## 4.2. Synthese des 22-Aldehyds

**Stigmasterol, (22E,24S)-3 $\beta$ -Hydroxy-24-ethyl-cholesta-5,22-dien (1)**

Das verwendete Stigmasterol (98%-ig) wurde von der Firma Fluka erworben. Durch Umkristallisation aus Aceton (DC Hexan:EtOAc = 80:20;  $R_f$  = 0.23) wird Stigmasterol (1) als eine farblose, feinkristalline Substanz erhalten.



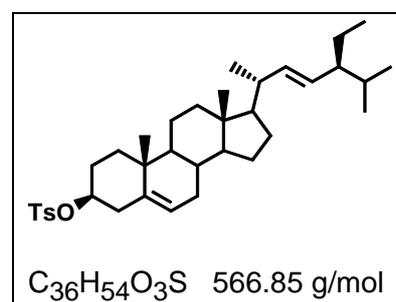
Schmp. : 166-167°C; Lit. [163] 170°C.

EI-MS :  $m/z$  (%) = 412 ( $M^+$ ; 100), 394 (15), 379 (10), 369 (18), 351 (26), 300 (30), 271 (30), 255 (35), 213 (13), 159 (15), 145 (12), 133 (12), 81 (15), 68 (14).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**Stigmasteroltosylat, (22E,24S)-3 $\beta$ -Tosyloxy-24-ethyl-cholesta-5,22-dien (2)**

Zu einer bei RT gerührten Lsg. von 100 g (237 mmol) Stigmasterol (98%-ig) in 800 ml abs. Pyridin (dest. über  $P_4O_{10}$ ) werden portionsweise 90.6 g (475 mmol, 2 Äquiv.) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid addiert. Nach der Zugabe wird die Reaktion für weitere 20 h gerührt (DC Hexan:EtOAc = 80:20;  $R_f$  = 0.52). Die Aufarbeitung erfolgt durch langsames Eingießen der Reaktionsmischung in eine gut gerührte Lsg. aus 100 g  $KHCO_3$  in 600 ml Wasser und 400 ml Eis. Der resultierende Niederschlag wird abgesaugt und mit Wasser frei von Pyridin gewaschen. Das noch wasserhaltige Produkt wird am Rotationsverdampfer bei 65°C getrocknet. Für die Charakterisierung wurden kleine Mengen **2** durch Säulenchromatographie gereinigt (Hexan:EtOAc = 97:3 bis 90:10).



Ausbeute : 137.4 g (237 mmol = 100% d.Th.).

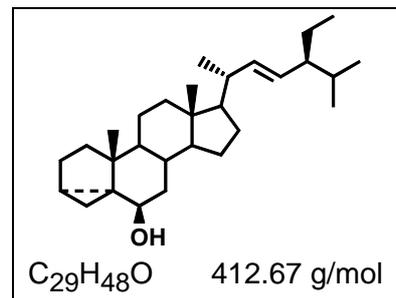
Schmp. : 143-144°C (aus Aceton); Lit. [162], 147-148°C (aus Aceton).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 565 ( $[M-H]^+$ ; 0.2), 532 (0.4), 394 (100), 379 (16), 351 (12), 255 (49), 253 (63), 172 (40), 159 (23), 145 (27), 133 (21), 107 (27), 91 (47).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**Isostigmasterol, (22E,24S)-3 $\alpha$ ,5-Cyclo-6 $\beta$ -hydroxy-24-ethyl-cholest-22-en (3)**

60 g (105.84 mmol) **2** werden in 1.1 l Aceton unter Rühren gelöst und im Wasserbad auf 65-69°C erhitzt (leichtes Sieden). Danach werden 52 g (529.2 mmol, 5 Äquiv.) Kaliumacetat in 235 ml H<sub>2</sub>O langsam zur Reaktion hinzugegeben. Durch die Wasserzugabe fällt das gelöste **2** partiell wieder aus, der Niederschlag löst sich jedoch innerhalb von 10 h Rühren unter Rückfluß wieder auf, da das entstehende **3** sehr gut löslich ist.



Nach insgesamt 20 h Reaktionszeit ist **2** vollständig umgesetzt (DC Hexan:EtOAc = 80:20;  $R_f$  = 0.48) und das Aceton wird abgezogen. Danach wird **3** mit *n*-Hexan gelöst, die Phasen werden getrennt und die wäßrige Phase wird noch 3x mit je 150 ml *n*-Hexan extrahiert. Nach der Vereinigung werden die org. Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingeeengt und an Kieselgel chromatographiert (Hexan:EtOAc = 97:3 bis 90:10).

Ausbeute : 35.7 g (86.51 mmol = 82% d.Th.).

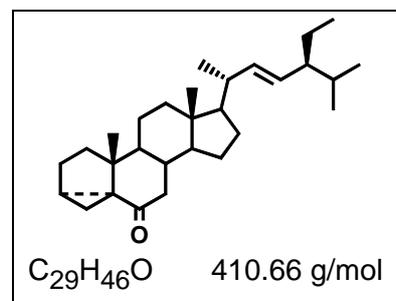
Schmp. : 49-51°C (aus Aceton/H<sub>2</sub>O); Lit. [162], 50-52°C (aus Aceton/H<sub>2</sub>O).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 412 (M<sup>+</sup>; 43), 397 (31), 394 (27), 351 (40), 300 (28), 271 (37), 255 (85), 253 (34), 121 (62), 109 (38), 95 (68), 83 (100), 69 (70).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22E,24S)-3 $\alpha$ ,5-Cyclo-24-ethyl-cholest-22-en-6-on (4)**

90 g (218 mmol) **3** werden in 400 ml abs. Pyridin (dest. über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub>) gelöst und bei RT zu 87.2 g (872 mmol, 4 Äquiv.) Chrom-VI-oxid in 1.2 l abs. Pyridin langsam zugetropft. Nach der Zugabe wird noch für 3 h gerührt (DC Hexan:EtOAc = 90:10;  $R_f$  = 0.42). Sobald die Reaktion beendet ist, wird das Pyridin am Rotationsverdampfer bei 70°C soweit wie möglich entfernt, **4** wird mit 1,5 l Ether gelöst und abgesaugt. Der Rückstand wird mehrfach mit Ether gewaschen und danach mit kleinen Mengen EtOAc solange extrahiert, bis im Filtrat mit DC kein Produkt **4** mehr nachweisbar ist. Die vereinigten Filtrate werden einrotiert und noch vorhandenes Pyridin durch Einengen mit Toluol entfernt. Im Anschluß daran wird das braune Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (Hexan:EtOAc = 98:2 bis 95:5).



Nach insgesamt 20 h Reaktionszeit ist **3** vollständig umgesetzt (DC Hexan:EtOAc = 80:20;  $R_f$  = 0.48) und das Aceton wird abgezogen. Danach wird **3** mit *n*-Hexan gelöst, die Phasen werden getrennt und die wäßrige Phase wird noch 3x mit je 150 ml *n*-Hexan extrahiert. Nach der Vereinigung werden die org. Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingeeengt und an Kieselgel chromatographiert (Hexan:EtOAc = 97:3 bis 90:10).

Ausbeute : 78 g (190 mmol = 87% d.Th.).

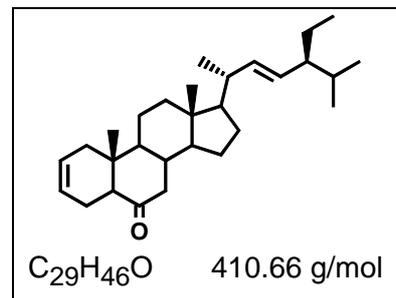
Schmp. : 105-106°C (aus EtOH); Lit. [150], 102-102°C (aus EtOH).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 410 (M<sup>+</sup>; 100), 395 (11), 367 (41), 298 (30), 271 (38), 269 (23), 245 (19), 229 (16), 135 (9), 123 (12), 121 (11), 81 (13), 55 (27).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22E,24S)-24-Ethyl-5 $\alpha$ -cholesta-2,22-dien-6-on (5)**

In einen Dreihalskolben mit Rückflußkühler, Thermometer und Siedeglocke werden 100g (243.5 mmol) **4** und 7.58 g (48.7 mmol, 0.2 Äquiv.) wasserfreies LiBr gegeben. Als Lsgm. wird 1 l N,N-Dimethylacetamid verwendet. Anschließend wird mit Argon gespült und die Reaktionsmischung für 3-4 h bei 170°C am Rückfluß gekocht (DC Hexan:EtOAc = 90:10;  $R_f$  = 0.55). Zur Aufarbeitung wird im Eis/Wasserbad abgekühlt, bei etwa



80°C setzt die Kristallisation von **5** ein. Nachdem auf 0°C gekühlt wurde, wird der Niederschlag abgesaugt, das Rohprodukt noch 2x mit Eiswasser gewaschen und bei 90°C am Rotationsverdampfer eingengt. Danach noch vorhandene Reste von N,N-Dimethylacetamid werden durch Anlegen eines Hochvakuums entfernt. Da **5** nur geringe Verunreinigungen aufweist, war eine Reinigung nur für analytische Zwecke notwendig.

Ausbeute : 81.1 g (197.5 mmol = 81% d.Th.).

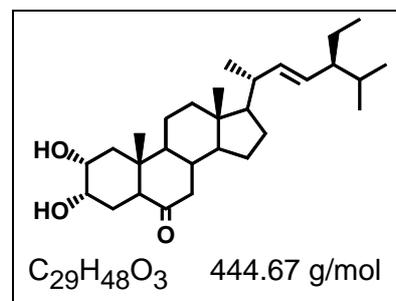
Schmp. : 109-111°C (aus EtOH); Lit. [150], 111-112°C (aus EtOH).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 410 ( $M^+$ ; 100), 395 (50), 367 (29), 298 (27), 297 (26), 269 (30), 243 (18), 149 (34), 123 (27), 107 (29), 95 (45), 83 (55), 81 (56).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22E,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-24-ethyl-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on (6)**

50 g (121.4 mmol) **5** werden in 1.2 l Aceton gelöst. In 60 ml *tert.*-BuOH werden 3.7 g  $OsO_4$  (14.6 mmol, 0.12 Äquiv.) aufgenommen und zur Reaktion addiert. 41.12 g (304.25 mmol, 2.5 Äquiv.) NMMNO, gelöst in 200 ml Aceton/Wasser 1:1 werden ebenfalls hinzugefügt. Die Reaktionsdauer für die *cis*-Dihydroxylierung der  $\Delta^2$ -Doppelbindung beträgt 3-5 h. Durch Reaktionskontrolle mit DC (DC  $CHCl_3$ :MeOH = 95:5;  $R_f$  = 0.34) wird der



Endpunkt der Dihydroxylierung bestimmt und der Anteil der Tetrahydroxylierung so klein wie möglich gehalten. Nach Abbruch der Reaktion durch Zugabe von  $NaHSO_3$  wird für weitere 2 h gerührt. **6** ist nur wenig in Aceton/Wasser löslich und fällt zu einem Großteil bereits während der Reaktion aus. Entgegen der üblichen Aufarbeitung ist es daher sinnvoll, den Ansatz zuerst zu fritten, den Filterkuchen mit kaltem Aceton zu spülen und das Filtrat einzuengen. Die resultierende wäßrige Phase wird 4x mit 100 ml  $CHCl_3$  extrahiert. Die Extrakte werden mit 50 ml 5%-iger HCl geschüttelt, im Anschluß daran mit 50 ml gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen und schließlich mit  $H_2O$  bis zur neutralen Reaktion behandelt. Durch Trocknen über  $Na_2SO_4$ , Einengen und Vereinigen mit dem Filterkuchen wird **6** erhalten. **6** läßt sich nur aufwendig chromatographieren und wurde deshalb ohne Reinigung zu **7** weiterverarbeitet.

Ausbeute : 44.27 g (99.53 mmol, 82% d. Th.).

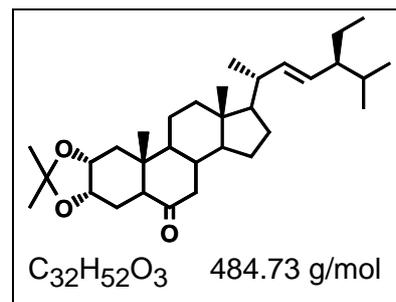
Schmp. : 210-212°C (aus EtOH); Lit. [150], 235-238°C (aus EtOH).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 444 ( $M^+$ ; 53), 429 (8), 401 (25), 383 (38), 332 (37), 303 (49), 287 (41), 269 (28), 149 (31), 123 (30), 97 (60), 83 (68), 69 (82), 55 (100).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22E,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-24-ethyl-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on (7)**

30 g (67.4 mmol) **6** werden mit 1.0 l  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und einem großen Überschuß von 40 ml 2,2-Dimethoxypropan versetzt. Durch Zugabe von 1,5 g *p*-TsOH wird die Reaktion gestartet. Innerhalb von 5 min wird **6** vollständig gelöst und die Hauptmenge ist damit umgesetzt. Nachdem noch 1 h bei RT gerührt wurde (DC Hexan:EtOAc = 80:20;  $R_f$  = 0.36), kann mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  neutralisiert werden. Danach wird mit Brine gewaschen, die organische Phase wird über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und einrotiert. Chromatographieren (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 80:20) liefert das farblose **7**.



Ausbeute : 29.4 g (60.66 mmol, 90% d. Th.).

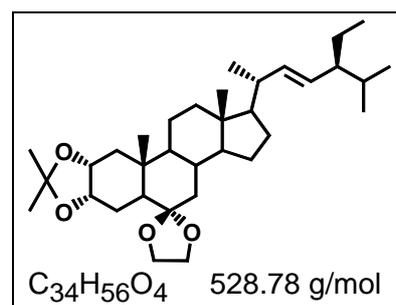
Schmp. : 157-159°C (aus EtOH); Lit. [150], 158-159°C (aus EtOH).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 484 ( $M^+$ ; 11), 469 (100), 489 (17), 357 (8), 383 (26), 287 (12).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22E,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-24-ethyl-5 $\alpha$ -cholest-22-en (8)**

170 ml 2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan und 1.96 g (10.35 mmol, 0.15 Äquiv.) *p*-TsOH werden zu 29.1 g (60.0 mmol) **7** addiert und unter Rückfluß bei 110°C erhitzt (DC Hexan:EtOAc = 80:20;  $R_f$  = 0.42). Das Gleichgewicht **7/8** läßt sich zugunsten von **8** durch vorsichtiges destillieren des entstehenden Acetons verschieben. Die Reaktion wird nach 3 h durch Zugabe von ca. 2 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$  abgebrochen und das Reagenz destilliert. Nach dem Abkühlen wird **8** (mit Resten von **7**) in Ether aufgenommen u. mit halbgesättigter Brine gewaschen. Nach der Phasentrennung wird die org. Phase mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und einrotiert. Da sich die  $R_f$ -Werte von **7** und **8** kaum unterscheiden, muß sorgfältig chromatographiert werden (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 80:20).



Ausbeute : 26.66 g (50.42 mmol, 84% d. Th., bezogen auf umgesetztes **7**).

Schmp. : amorph; Lit. [150, 152] amorph.

EI-MS :  $m/z$  (%) = 528 ( $M^+$ ; 14), 513 (31), 317 (100), 239 (13), 178 (17), 99 (12).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

Verbindung **10a** und **10b** wurden aus **7** mit 2-Ethyl-2-methyl-1,3-dioxolan hergestellt.

**10a**: EI-MS:  $m/z$  (%) = 542 ( $M^+$ ; 1), 527 (5), 513 (100), 317 (18), 253 (5), 178 (7), 99 (7).

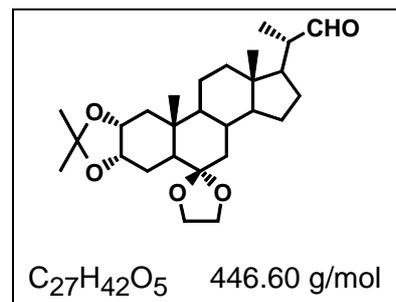
HR-MS:  $m/z$  = 542.4353 (berechnet für  $C_{35}H_{58}O_4$  542.4371).

**10b**: EI-MS:  $m/z$  (%) = 542 ( $M^+$ ; 4), 527, (42), 513 (100), 317 (60), 253 (6), 178 (8), 99 (9).

HR-MS:  $m/z$  = 513.3940 (berechnet für  $C_{33}H_{53}O_4$  513.3936).

### (20S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-20-formyl-5 $\alpha$ -pregnan (**9**)

Zu einer Lösung von 6 g (11.3 mmol) **8** in 200 ml  $CH_2Cl_2$  werden 4 ml Pyridin und 6 g  $NaHCO_3$  addiert. Danach wird bei  $-60^\circ C$  unter Rühren für 20 min ein Gemisch  $O_3/O_2$  eingeleitet (Laborozonisorator 301.7 der Firma Sander; 50 l/h; 0.5 A Stromaufnahme; ca. 1.8 g  $O_3/h$  = 12.5 mmol  $O_3$  in 20 min) (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.55). Zum Abbruch der Reaktion wird mit einem starken Strom Argon 10 min gespült und dann durch Zugabe von 30 ml  $Me_2S$  das Ozonid reaktiv gespalten. Es wird 90 min bei  $-60^\circ C$  und danach 90 min bei RT gerührt. Die Feststoffe werden abgefrittet und das Filtrat wird unter Zusatz von Toluol (Pyridinschlepper) einrotiert. Da **9** leicht isomerisiert, wurde das Rohprodukt nur für die Analytik gereinigt und ansonsten sofort weiterverarbeitet.



Ausbeute : 4.6 g (10.3 mmol, 91% d. Th.).

Schmp. : amorph; Lit. [152] amorph.

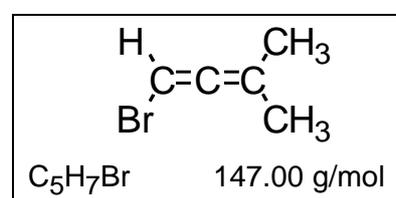
EI-MS :  $m/z$  (%) = 446 ( $M^+$ ; 5), 431 (50), 239 (17), 235 (100), 178 (12), 99 (45).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 4.3. Synthese von Castasteron und Brassinolid

#### 1-Brom-3-methyl-buta-1,2-dien (**MBBr**)

Zu 19.4 g  $NH_4Br$ , 24.3 g Kupfer(I)-bromid, 1,2 g Kupferpulver und 173,8 ml 48%-ige  $HBr$  werden 40.8 g (486 mmol) 2-Methyl-but-3-in-2-ol (**MBO**) addiert und für 1 h bei  $30^\circ C$  gerührt. Danach wird die violette Lsg. 5x mit je 100 ml *n*-Hexan extrahiert und die org. Phasen werden über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Das *n*-Hexan wird bei Normaldruck und Verbindung **MBBr** im Vakuum fraktioniert destilliert.



Ausbeute : 53.5 g (364 mmol, 75% d. Th.).

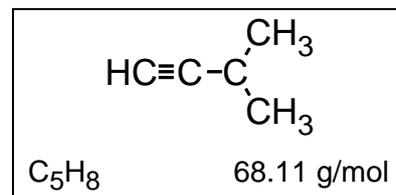
Kp. :  $48^\circ C$  bei 45 Torr.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : 5.83 (1H, m), 1.85 (3H, s), 1.84 (3H, s).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 199.8, 107.2, 69.9, 2 x 20.4.

**3-Methyl-but-1-in (MB)**

In einem mit Argon gefülltem Zweihalskolben werden 6,92 g  $\text{LiAlH}_4$  und 220 ml Diethylenglykoldiethylether gegeben. Der Kolben wird auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt, mit einer Destille und einem auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühltem Vorlauf versehen. Dann werden über einen Tropftrichter 53,5 g (364 mmol) **MBBr** zugetropft. Nach vollendeter Zugabe wird das Kühlbad entfernt und die Reaktion auf  $50^\circ\text{C}$  erwärmt, wobei **MB** übergeht und im gekühlten Vorlauf kondensiert.



Ausbeute : 13.6 g (200 mmol, 55% d. Th.).

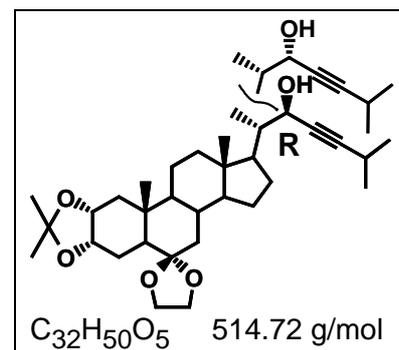
Kp. :  $29.5^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2.58 (1H, m), 2.14 (1H, d, 2.1Hz), 1.21 (6H, d, 7.0 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 90.2, 67.1, 2 x 22.8, 20.2.

**(22R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-5 $\alpha$ -cholest-23-in (11) und das (22S)-Isomer 12**

Zu 30 ml auf  $-20^\circ\text{C}$  gekühltem abs. THF werden unter Argon 12.9 ml (20.64 mmol, 4 Äquiv.) einer 1.6 M Lsg. von *n*-BuLi in *n*-Hexan zugetropft. Anschließend wird diese Lsg. auf  $-60^\circ\text{C}$  gekühlt und es werden tropfenweise 1.58 g (23.22 mmol, 4.5 Äquiv.) 3-Methyl-but-1-in (**MB**) addiert. Nach 10 min rühren wird für 30 min auf RT erwärmt und dann auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlt. Jetzt werden zum metallierten Seitenkettensynthon 2.3 g (5.16 mmol) **9**, gelöst in 40 ml abs. THF, langsam hinzugefügt und es wird 1 h bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f = 0.54$ ). Danach wird das Kühlbad entfernt und die Reaktion unterhalb von  $-20^\circ\text{C}$  mit gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lsg. abgebrochen. Die Aufarbeitung erfolgt nach dem Erwärmen auf RT durch Verdünnen mit EtOAc, die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird nochmals mit EtOAc extrahiert. Dann werden die org. Phasen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und einrotiert. Gereinigt und getrennt mit HPLC wurde das 1:1 Gemisch von **11+12** nur für analytische Zwecke.



Ausbeute : (**11+12**) 2.6 g (5.05 mmol, 98% d. Th.).

Analytische HPLC: LiCrospher 100 RP 18, MeCN:H<sub>2</sub>O = 80:20,  $R_t =$  **12**: 4.74 min,

**11**: 6.37 min; YMC ODS, MeCN:H<sub>2</sub>O = 95:5,  $R_t =$  **12**: 8.22, **11**: 10.12 min.

Präparative HPLC: LiCrospher 100 RP 18, 250x10 mm MeCN:H<sub>2</sub>O = 78:22.

EI-MS :  $m/z$  (%) = 514 ( $\text{M}^+$ ; 18), 499 (77), 417 (12), 359 (33), 303 (100), 254 (14), 239 (39), 173 (14), 125 (24), 99 (83), 81 (34), 73 (43), 55 (49).

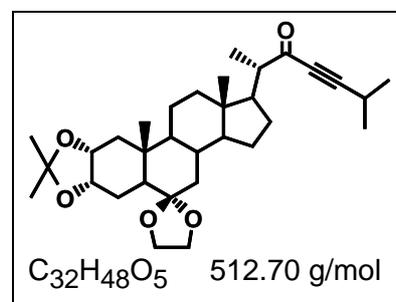
**11** : Schmp.: 176-178°C (aus CHCl<sub>3</sub>); Lit. [152] 173-175°C (aus MeOH).  
 [α]<sub>D</sub><sup>27</sup> : +55.6 (c = 1.0, MeOH)(Lit. [152], +57.9/27°C).  
 IR (Nujol) : ν = 3484 (w), 1715 (w), 1456 (s), 1376 (m), 1242 (w), 1213 (w), 1173 (w),  
 1055 (w), 982 (w), 898 (w), 859 (w).

**12** : Schmp.: 77-79°C (aus CHCl<sub>3</sub>).  
 [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> : +44.6 (c = 1.2, MeOH); Lit. [152], +53.1/27°C.  
 IR (Nujol) : ν = 3392 (w), 1716 (w), 1462 (s), 1377 (m), 1241 (w), 1216 (w), 1174 (w),  
 1056 (w), 991 (w), 892 (w), 859 (w).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 2α,3α-Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-5α-cholest-23-in-22-on (13)

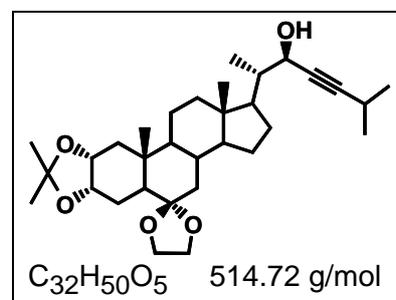
2.6 g (5.05 mmol) des Gemisches **11+12** werden in 150 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und unter Rühren mit 1.74 g (8.08 mmol, 1.6 Äquiv.) PCC versetzt. Nach 20 h bei RT ist die Oxidation beendet (DC Hexan:EtOAc = 60:40; R<sub>f</sub> = 0.64) und **13** wird an Kieselgel gebunden. Chromatographiert wird mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30.



Ausbeute : 2.2 g (4.34 mmol, 86% d. Th.).  
 Schmp. : amorph. [α]<sub>D</sub><sup>27</sup> : -0.2 (c = 1.1, MeOH).  
 IR (Nujol) : ν = 3388 (m), 1705 (s), 1467 (m), 1448 (m), 1366 (m), 1244 (w), 1215 (w),  
 1174 (w), 1055(m), 858 (w).  
 UV : λ<sub>max</sub> (lg ε) = 230 nm (3.0).  
 EI-MS : m/z (%) = 512 (M<sup>+</sup>; 22), 497 (53), 301 (100), 239 (21), 99 (39).  
<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### (22R)-2α,3α-Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-5α-cholest-23-in (11)

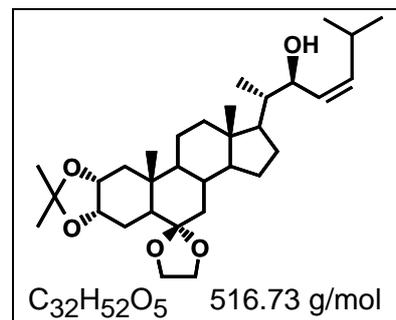
Die stereoselektive Reduktion von 2.2 g (4.34 mmol) **13** erfolgt in 40 ml abs. THF unter Argon. Als Reagenz werden 20 ml (9.98 mmol, 2.3 Äquiv.) einer 0.5 M R-Alpine-Boran-Lösung in THF zugesetzt. Diese Mischung wird für 3-5 Tage bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40; R<sub>f</sub> = 0.54). Nach beendeter Reaktion wird an Kieselgel gebunden und **11** wird chromatographiert (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).



Ausbeute : 2.0 g (3.9 mmol, 90% d. Th.).  
 Analytische Daten vgl. **11+12**.

**(22R,23Z)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-5 $\alpha$ -cholest-23-en (14)**

Der P-2 Nickel Katalysator wird hergestellt durch Zugabe von 2.7 ml (1 Äquiv.) einer 1M NaBH<sub>4</sub>-Lsg. in EtOH zu einer Lsg. aus 0.68 g (2.72 mmol, 1 Äquiv.) Ni(OAc)<sub>2</sub> x 4 H<sub>2</sub>O in 10 ml 95%-igem EtOH. Es wird mit H<sub>2</sub> gespült, der Katalysator wird mit 359  $\mu$ l (5.37 mmol, 2 Äquiv.) Ethylendiamin partiell vergiftet und im Anschluß werden 1.4 g (2.72 mmol) **11**, in 20 ml EtOH gelöst, addiert. Nach der beendeten H<sub>2</sub>-Aufnahme (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.48) wird mit EtOAc verdünnt, filtriert und mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 chromatographiert.



Ausbeute : 1.33 g (2.58 mmol, 95% d. Th.).

Schmp. : 74-76°C (aus EtOAc).  $[\alpha]_D^{26}$  : +34.5 (*c* = 1.0, MeOH).

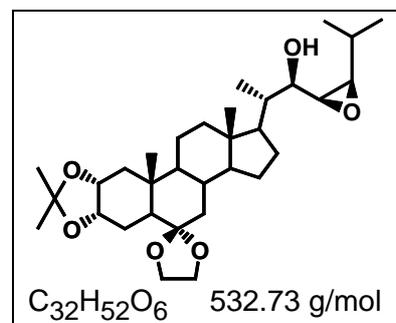
IR (Nujol) :  $\nu$  = 3359 (w), 1713 (m), 1568 (w), 1462 (s), 1377 (s), 1242 (m), 1215 (m), 1174 (m), 1087 (w), 1059 (m), 859 (m).

EI-MS : *m/z* (%) = 516 (M<sup>+</sup>; 8), 501 (39), 417 (52), 403 (28), 359 (100), 341 (19), 305 (80), 239 (27), 207 (40), 99 (88), 81 (48), 73 (29), 55 (37).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23S,24R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-23,24-epoxy-5 $\alpha$ -cholestan (15a) und das (23R,24S)-Isomer 15b**

Zu 1.0 g (1.94 mmol) **14**, gelöst in 80 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, werden 0.85 g gepulvertes wasserfreies Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> gegeben und auf 5°C gekühlt. Nach der Addition von 0.85 g (ca. 85%-ig) MCPBA wird weitere 20 h bei 5°C gerührt. Bei Verwendung von ungereinigtem **14** wurde auch das unerwünschte (23R,24S)-Isomer **15b** erhalten (DC Hexan:EtOAc = 60:40; **15a** *R<sub>f</sub>* = 0.36; **15b** *R<sub>f</sub>* = 0.40). Der Abbruch erfolgt durch die Zugabe von 27 ml 0.5 N NaOH. Die Phasen werden getrennt, die org. Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingeeengt und chromatographiert (Gradient Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).



Ausbeute : 816 mg (1.53 mmol, 79% d. Th. ohne **15b** Bildung).

EI-MS : *m/z* (%) = 532 (M<sup>+</sup>; 10) 517 (37), 489 (6), 321 (97), 239 (38), 99 (100).

**15a** : Schmp.: 154-157°C (aus EtOAc); Lit. [152] 181-182°C (aus EtOAc).

$[\alpha]_D^{26}$  : +31.6 (*c* = 1.0, MeOH); Lit. [152], +32.2/27°C.

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3476 (m), 1697 (m), 1459 (s), 1378 (s), 1217 (m), 1174 (m), 1084 (m), 1054(m), 984 (w), 861 (m), 779 (w).

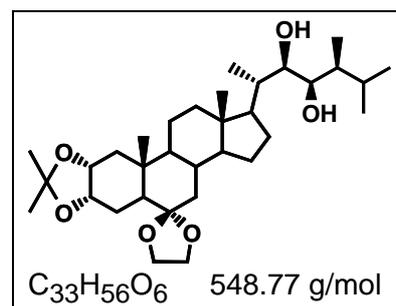
UV :  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 215 nm (2.1), 245 nm (0.5).

**15b** : Schmp.: 98-100°C (aus EtOAc).  $[\alpha]_D^{26}$  : +36.4 ( $c = 1.0$ , MeOH).  
 IR (Nujol) :  $\nu = 3446$  (m), 1717 (m), 1458 (s), 1377 (s), 1244 (m), 1215 (m), 1174 (m),  
 1137 (w), 1085 (m), 1057 (m), 992 (w), 958 (w), 897 (w), 859 (w), 790 (w).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 230 nm (1.4), 280 nm (0.1).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22,23-dihydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan (16)**

600 mg (1.12 mmol) **15a** werden in 100 ml abs. Cyclohexan gelöst, mit 100 ml abs. *n*-Hexan verdünnt, so das eine klare Lösung entsteht. Danach wird die Mischung unter Argon gerührt und auf -78°C gekühlt. Durch Addieren von 3.36 ml (6.72 mmol, 6 Äquiv.)  $\text{Me}_3\text{Al}$  (2 M Lsg. in *n*-Hexan) und 0.42 ml (0.67 mmol, 0.6 Äquiv.) *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan) wird die Reaktion gestartet. Innerhalb von 4-5 h wird die Mischung



langsam auf RT erwärmt und dann weitere 20 h bei RT gerührt (DC  $\text{CHCl}_3$ :MeOH = 95:5;  $R_f = 0.44$ ). Der Abbruch erfolgt mit 60 ml 1N HCl bei -40°C. Nachdem auf 0°C erwärmt wurde, werden die Phasen getrennt, die org. Phase wird mit  $\text{NaHCO}_3$  und Brine gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, eingengt und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 80:20 bis 50:50).

Ausbeute : 274 mg (0.5 mmol, 45% d. Th.).

Schmp. : 88-89°C (aus EtOAc).

$[\alpha]_D^{27}$  : +38.4 ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 1457$  (s), 1377 (m), 1216 (w), 1174 (w), 1085 (w), 1058 (w).

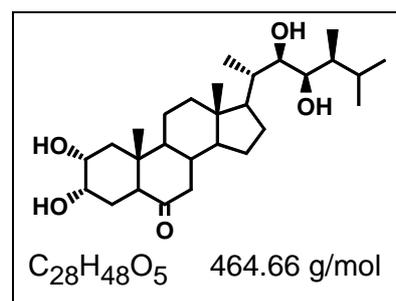
UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 221 nm (2.7), 265 nm (0.4).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 548 ( $\text{M}^+$ ; 9), 533 (32), 517 (81), 489 (7), 389 (18), 337 (30), 321 (100), 303 (7), 254 (10), 239 (19), 99 (24).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**Castasteron, (22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (17)**

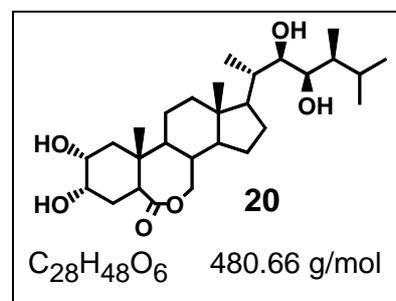
250 mg (0.45 mmol) **16**, gelöst in 15 ml AcOH:H<sub>2</sub>O = 80:20, werden für 1 h auf 50°C am Rückfluß erwärmt (DC  $\text{CHCl}_3$ :MeOH = 90:10;  $R_f = 0.29$ ). Nach dem Abkühlen auf RT wird mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  neutralisiert und mit Wasser/ $\text{CHCl}_3$  verdünnt. Die Phasen werden getrennt und die wäßrige Phase wird 5x mit  $\text{CHCl}_3$  extrahiert. Die Reinigung erfolgt durch Kristallisation aus MeOH.



Ausbeute : 186 mg (0.4 mmol, 89% d. Th.).  
 Schmp. : 248-250°C (aus MeOH); Lit. [152] 256-259°C (aus EtOAc/MeOH).  
 $[\alpha]_D^{26}$  : +0.2 ( $c = 1.0$ , MeOH); Lit. [152], -0.7/27°C.  
 HPLC : YMC ODS, 250x4.6, MeCN:H<sub>2</sub>O = 60:40,  $R_f = 7.58$  min.  
 IR (Nujol) :  $\nu = 3322$  (s), 1705 (s), 1457 (s), 1377 (m), 1260 (w), 1083 (m), 1048 (m),  
 993 (w), 974 (m), 948 (w), 933 (w), 627 (w).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 275 nm (0.2).  
 EI-MS :  $m/z$  (%) = 465 ([M+H]<sup>+</sup>; 0.6), 447 (1), 364 (100), 346 (68), 345 (72), 327 (60),  
 287 (22), 263 (18); 245 (12), 173 (19), 95 (32), 81 (34), 71 (25), 55 (40).  
 HR-MS :  $m/z = 364.2633$  (berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> 364.2614).  
<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### Brassinolid, (22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24-methyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (18) und das (5 $\alpha$ -oxa)-Isolacton 19

Für die Darstellung der Trifluorperessigsäure (3.2 mmol, 10 Äquiv.) werden 0.36 ml (3.2 mmol, 10 Äquiv.) einer 30%-igen wäßrigen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lsg. in 3 ml CHCl<sub>3</sub> vorgelegt und mit 2.22 ml (16 mmol, 50 Äquiv.) Trifluoressigsäureanhydrid versetzt. 150 mg (0.32 mmol) **17** werden in 10 ml CHCl<sub>3</sub> gelöst und zu dieser bei 0°C gerührten Lsg. hinzugegotropft. Nach dem Erwärmen auf RT wird für weitere 2 h gerührt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10;  $R_f =$



0.21). Für die Aufarbeitung wird mit 30 ml CHCl<sub>3</sub> verdünnt und die resultierende Lsg. nacheinander mit 5 ml Wasser, 2x 5 ml NaHCO<sub>3</sub>-Lsg., 2x 5 ml gesättigter NaHSO<sub>3</sub> und mit 10 ml Brine gewaschen. Anschließend wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Chromatographiert wird mit CHCl<sub>3</sub>:MeOH, wobei ein Gradient von 100:0 bis 92:8 Verwendung findet. Die Trennung von Lacton **18** und Isolacton **19** erfolgt durch HPLC.

Ausbeute : 112 mg (0.23 mmol, 73% d. Th.).  
 Analytische HPLC: YMC ODS, MeCN:H<sub>2</sub>O = 60:40,  $R_f =$  **18**: 5.79 min, **19**: 5.37 min.  
 Präparative HPLC: YMC ODS, 150x20, MeCN:H<sub>2</sub>O = 50:50.

**18** : Schmp.: 285-286°C (aus MeOH); Lit. [152], 274-278°C (aus MeOH).  
 $[\alpha]_D^{27}$  : +48.0 ( $c = 1.0$ , MeOH); Lit. [152], +47.0/27°C/MeOH.  
 IR (Nujol) :  $\nu = 3445$  (m), 1699 (m), 1456 (s), 1377 (m), 1185 (w), 1065 (w), 1024 (w).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 215 nm (0.3).  
 EI-MS :  $m/z$  (%) = 481 ([M+H]<sup>+</sup>; 3), 409 (7), 380 (59), 379 (52), 362 (78), 361(60),  
 350 (45), 343 (55), 177 (39), 173 (26), 131 (36), 101 (38), 95 (100), 71 (74).  
 HR-MS :  $m/z = 380.2538$  (berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub> 380.2563), 379.2431 (berechnet  
 für C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub> 379.2483), 361.2361 (berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>O<sub>4</sub> 361.2379),  
 350.2468 (berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> 350.2457), 343.2268 (berechnet für  
 C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub> 343.2274).

- 19** : Schmp.: 279-280°C.  $[\alpha]_D^{28}$  : +27.7 ( $c = 1.0$ , MeOH).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 220 nm (0.8).  
 EI-MS :  $m/z$  (%) = 445 ( $[M+H-2H_2O]^+$ , 2), 409 (4), 380 (25), 361(27), 350 (20), 343 (58), 326 (58), 177 (19), 173 (31), 131 (31), 101 (32), 81 (100), 71 (68).  
 HR-MS :  $m/z$  = 380.2590 (berechnet für  $C_{22}H_{36}O_5$  380.2563), 361.2395 (berechnet für  $C_{22}H_{33}O_4$  361.2379), 343.2292 (berechnet für  $C_{22}H_{31}O_3$  343.2246).

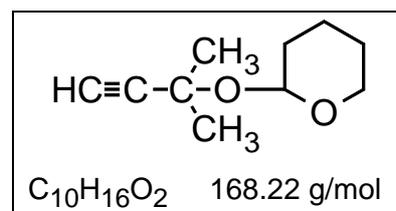
$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### 4.4. Synthese von 25-Hydroxycastasteron und 25-Hydroxybrassinolid

##### 4.4.1. Seitenkettenaufbau unter Verwendung der THP-Schutzgruppe

##### 3-(Tetrahydropyran-2'-yloxy)-3-methyl-but-1-in (MBOT)

49 ml (500 mmol) **MBO** werden mit 10 ml  $CH_2Cl_2$  (über Molsieb) verdünnt und mit 67.8 ml (750 mmol, 1.5 Äquiv.) 3,4-Dihydropyran versetzt. Nach der Zugabe von 12.6 g (50 mmol, 0.1 Äquiv.) PPTS wird für 4 h bei RT gerührt. Danach wird mit Ether verdünnt und überschüssiges PPTS durch Waschen mit Brine (2x)



entfernt. Nach dem Trocknen über  $Na_2SO_4$  wird das Lsgm. vorsichtig am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt **MBOT** unter reduziertem Druck destilliert.

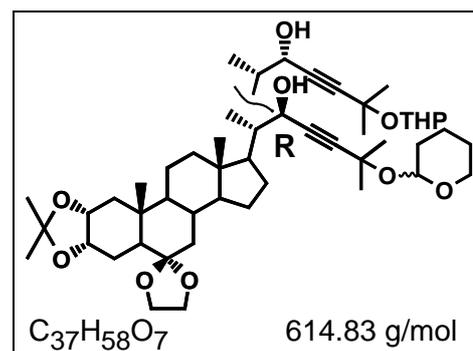
Ausbeute : 59.7 g (355 mmol, 71% d. Th.). Kp.: 41-42.5°C bei 2-2.5 Torr.

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : 5.06 (1H, dd, 5.3/3.2Hz), 3.95 (1H, m), 3.50 (1H, m), 2.43 (1H, m), 1.85 (1H, m), 1.72 (1H, m), 1.6-1.52 (2H, m), 1.55 (3H, s), 1.50 (3H, s).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 96.1, 86.3, 71.8, 70.8, 63.3, 31.9, 30.5, 29.7, 25.3, 20.4.

##### (22*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-25-(tetrahydropyran-2'-yloxy)-5 $\alpha$ -cholest-23-in (**20**) und das (22*S*)-Isomer **21**

Zu einer Lsg. von 11.2 ml *n*-BuLi (1.6 M in Hexan, 17.9 mmol, 4 Äquiv.) in 20 ml abs. THF werden 3.38 g (20.16 mmol, 4.5 Äquiv.) **MBOT** gegeben. Wie für **11+12** beschrieben, werden dann 2.0 g (4.48 mmol) **9** addiert. Nach 1h bei -78°C (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f = 0.38$ ) wird aufgearbeitet, chromatographiert (Hexan: EtOAc = 95:15 bis 80:20) und das 1:1 Gemisch **20+21** mit HPLC teilweise getrennt.



Ausbeute : (**20+21**) 2.34 g (3.8 mmol, 85% d. Th.).

Analytische HPLC: LiCrospher 100 RP 18, MeCN:H<sub>2</sub>O = 80:20,  $R_f$  = **21**: 4.92 min, **20**: 7.17 min; YMC ODS, MeCN:H<sub>2</sub>O = 95:5,  $R_f$  = **21**: 8.75 min, **20**: 11.54 min.

Präparative HPLC: LiCrospher 100 RP 18, MeCN:H<sub>2</sub>O = 90:10.

EI-MS :  $m/z$  (%) = 614 (M<sup>+</sup>, 3), 599 (30), 530 (12), 515 (66), 418 (25), 403 (12), 360 (39), 319 (82), 239 (22), 99 (38), 85 (100).

**20** : Schmp.: amorph.  $[\alpha]_D^{27}$  : +44.5 ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3420$  (s), 1715 (w), 1457 (s), 1377 (s), 1244 (w), 1215 (w).

**21** : Schmp.: amorph.  $[\alpha]_D^{26}$  : +42.7 ( $c = 1.2$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3400$  (s), 1716 (w), 1456 (s), 1377 (s), 1244 (w), 1215 (w).

Berechnet für C<sub>37</sub>H<sub>58</sub>O<sub>7</sub> (614.87): C, 72.28; H, 9.51. Gemessen **20**: C, 72.22; H, 9.24.  
**21**: C, 72.32; H, 9.25.

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-25-(tetrahydropyran-2'-yloxy)-5 $\alpha$ -cholest-23-in-22-on (**22**)

2 g (3.25 mmol) des Gemisches **20+21** werden in 100 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und mit 1.12 g PCC für 20 h bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.49). Chromatographieren (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30) liefert **22** als ein Gummi.

Ausbeute : 1.6 g (2.61 mmol, 81% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{27}$  : +25.6 ( $c = 1.0$ , MeOH).

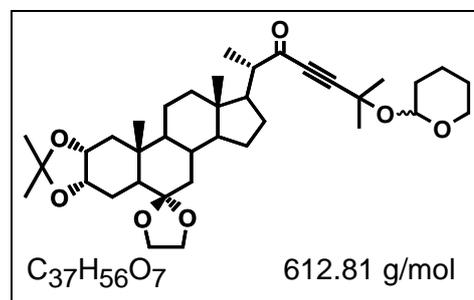
IR (Nujol) :  $\nu = 2205$  (m), 1716 (m), 1677 (m), 1456 (s), 1378 (m), 1245 (w), 1215 (w), 1174 (w), 859 (m).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 231 nm (0.48).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 612 (M<sup>+</sup>, 4), 597 (22), 528 (19), 513 (78), 417 (38), 401 (16), 317 (100), 239 (41), 99 (57), 85 (37).

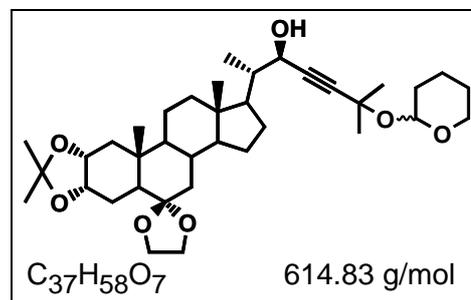
Berechnet für C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>O<sub>7</sub> (612.85): C, 72.52; H, 9.21. Gemessen: C, 72.26; H, 9.03.

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.



**(22R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-25-(tetrahydropyran-2'-yloxy)-5 $\alpha$ -cholest-23-in (20)**

Das 22-Keton **22** (1.5 g, 2.44 mmol) wird in 30 ml abs. THF gelöst und unter Argon mit 11.2 ml (0.5M in THF, 5.6 mmol, 2.3 Äquiv.) R-Alpine-Boran-Lösung versetzt und 3 Tage bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 6:4;  $R_f$  = 0.38), einrotiert und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).

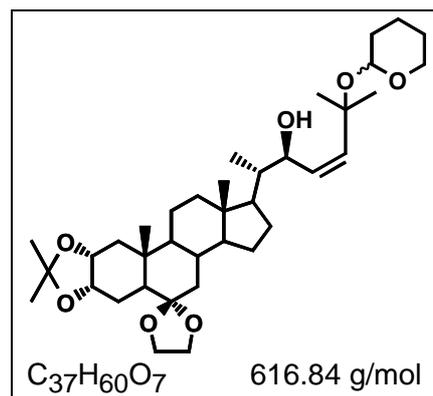


Ausbeute : 1.3 g (2.11 mmol, 86% d. Th.)

Analytische Daten vgl. **20+21**.

**(22R,23Z)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-25-(tetrahydropyran-2'-yloxy)-5 $\alpha$ -cholest-23-en (23a) und (23b) (2'-Isomere)**

Der P2-Nickel Katalysator (1 Äquiv.) wird wie für **14** beschrieben hergestellt. 1.2 g (1.95 mmol) **20**, gelöst in 10 ml EtOH werden addiert und die Mischung wird über Nacht bei RT unter einer  $H_2$ -Atmosphäre gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40; **23b**  $R_f$  = 0.42; **23a**  $R_f$  = 0.37). Nachdem mit 30 ml Ether verdünnt wurde, wird filtriert, das Filtrat eingengt und das resultierende Gummi chromatographiert. Elution mit Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 liefert zuerst **23b**, gefolgt von dem etwas mehr polarerem **23a**.



Ausbeute : (**23a+23b**) 1.1 g (1.78 mmol, 91% d. Th.).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 616 ( $M^+$ , 3), 601 (26), 514 (40), 418 (51), 360 (100), 303 (13), 239 (10), 99 (22), 97 (63), 85 (58).

**23a** : Schmp.: 160-162°C (aus  $CHCl_3$ ).  $[\alpha]_D^{27}$  : +65.5 ( $c$  = 1.1, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3500 (s), 1714 (w), 1460 (s), 1376 (s), 1244 (w), 1212 (w), 1182 (w), 1022 (m), 867 (m), 747 (w).

**23b** : Schmp.: 71-72°C (aus  $CHCl_3$ ).  $[\alpha]_D^{29}$  : +25.7 ( $c$  = 1.1, MeOH).

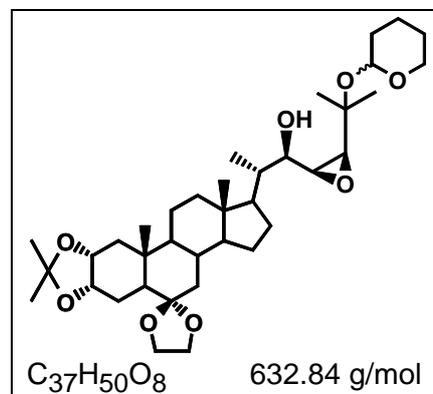
IR (Nujol) :  $\nu$  = 3418 (s), 1732 (w), 1457 (s), 1378 (s), 1243 (m), 1215 (m), 1174 (m), 1058 (w), 858 (m).

Berechnet für  $C_{37}H_{60}O_7$  (616.89): C, 72.04; H, 9.80. Gemessen **23a**: C, 71.87; H, 9.47; **23b**: C, 71.76; H, 9.72.

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*,23*S*,24*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-23,24-epoxy-25-(tetrahydropyran-2'-yloxy)-5 $\alpha$ -cholestan (24a) und (24b) (2'-Isomere)**

Zu einer Lösung von 0.5 g (0.81 mmol) **23a** oder **23b** in 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden 345 mg (2.43 mmol, 3 Äquiv.) wasserfreies gepulvertes Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> und 362 mg MCPBA (ca. 85%, 1.78 mmol, 2.2 Äquiv.) gegeben und bei 5°C für 20 h gerührt. Der Abbruch erfolgt mit 15 ml NaOH (0.5 N). Nach der Extraktion mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wird das Rohprodukt **24a** bzw. **24b** (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.19) mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 chromatographiert.



EI-MS : *m/z* (%) = 632 (M<sup>+</sup>, 2), 617 (10), 548 (10), 533 (35), 489 (12), 418 (16), 360 (27), 337 (63), 319 (9), 239 (21), 99 (50), 85 (100).

**24a** : Ausbeute: 405 mg (0.64 mmol, 79% d. Th.).

Schmp. : 186-187°C (CHCl<sub>3</sub>/MeOH). [α]<sub>D</sub><sup>31</sup> : +10.0 (*c* = 1.1, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3487 (s), 1711 (m), 1457 (s), 1378 (s), 1241 (w), 1215 (w), 1174 (w), 1058 (w), 861 (w).

**24b** : Ausbeute: 431 mg (0.68 mmol, 84% d. Th.).

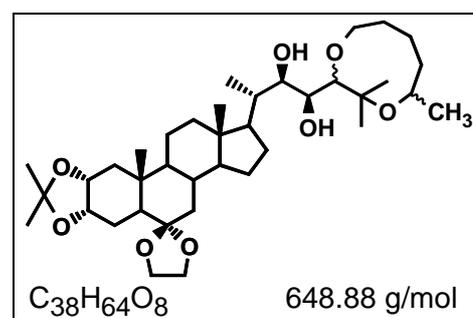
Schmp. : 162-163°C (CHCl<sub>3</sub>/MeOH). [α]<sub>D</sub><sup>28</sup> : +45.7 (*c* = 1.3, MeOH).

Berechnet für C<sub>37</sub>H<sub>60</sub>O<sub>8</sub> (632.88): C, 70.22; H, 9.56. Gemessen **24a**: C, 69.89; H, 9.28;  
**24b**: C, 69.97; H, 9.36.

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*,23*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22,23-dihydroxy-24,25-hexane-1,5-diylidioxy-5 $\alpha$ -cholestan (25)**

In analoger Weise zu **16** werden 390 mg (0.56 mmol) **24a** in abs. *n*-Hexan/Cyclohexan gelöst und mit 2.81 ml Me<sub>3</sub>Al (2 M in *n*-Hexan, 5.62 mmol, 10 Äquiv.) und 0.71 ml *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 1.13 mmol, 2 Äquiv.) umgesetzt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 95:5; *R<sub>f</sub>* = 0.23). Nach analoger Aufarbeitung wird **25** chromatographiert (Hexan:EtOAc = 80:20 bis 50:50).



Ausbeute : 172 mg (0.26 mmol, 47% d. Th.).

Schmp. : amorph.

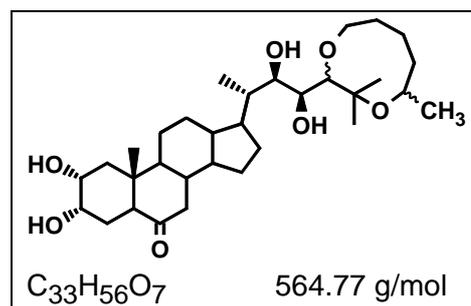
$[\alpha]_D^{29}$  : +20.0 ( $c = 1.0$ , MeOH).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 648 ( $M^+$ , 2), 633 (7), 533 (12), 418 (30), 389 (32), 360 (79), 337 (30), 239 (29), 99 (71), 85 (100).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24,25-hexane-1,5-diyldioxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (26)**

150 mg (0.23 mmol) **25**, gelöst in 20 ml  $\text{AcOH:H}_2\text{O} = 80:20$ , werden für 1 h auf  $50^\circ\text{C}$  am Rückfluß erwärmt ( $\text{DC CHCl}_3:\text{MeOH} = 90:10$ ;  $R_f = 0.38$ ). Es wird mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  neutralisiert, mit halbgesättigter Brine gewaschen und die org. Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. **26** wird durch Chromatographieren mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 80:20 bis 50:50 erhalten.



Ausbeute : 119 mg (0.21 mmol, 92% d. Th.).

Schmp. :  $201\text{-}203^\circ\text{C}$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ ).

$[\alpha]_D^{28}$  : +2.7 ( $c = 1.0$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3564$  (s), 3374 (s), 1703 (s), 1462 (s), 1377 (s), 1272 (w), 1224 (w), 1193 (w), 995 (w).

UV :  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 225 nm (0.4), 282 nm (0.2).

MS: Verbindung **26**.

Positives Ionen ESI-MS  $m/z$  (%) = 565 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 70), 506 (22), 488 (25), 465 (13), 447 (42), 364 ( $[\text{b}+\text{H}]^+$ , 100).

Negatives Ionen ESI-MS:  $m/z$  623 ( $[\text{M}+\text{OAc}]^-$ ).

Trimethylsilylether **26a**. EI-MS  $m/z$  (rel. int.) = 681 (**a**,  $[\text{M}-171]^+$ , 1.0), 579 (**b**, 1.8), 491 (1.4), 489 ( $[\text{b-TMSiOH}]^+$ , 447 (**d**, 1.0), 399 ( $[\text{b-2TMSiOH}]^+$ , 1.5), 389 (3.1), 359 (0.8), 327 (1.0), 309 ( $[\text{b-3TMSiOH}]^+$ , 1.7), 300 (4.7), 299 (2.5), 215 (3.0), 204 (1.6), 171 (**e**, 2.1), 157 (1.8), 73 (100), 59 ( $(\text{CH}_3)_2\text{OH}^+$ , 39).

Bismethylboronat **26b**. EI-MS  $m/z$  (%) = 612 ( $M^+$ , 0.1), 554 ( $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^+$ , 2.0), 454 ( $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}]^+$ , 3.2), 441 (**a**, 0.6), 357 (**c**, 1.3), 327 (**d**, 1.6), 287 (1.0), 197 (14), 113 ( $[\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}]^+$ , 68), 59 ( $(\text{CH}_3)_2\text{OH}^+$ , 100).

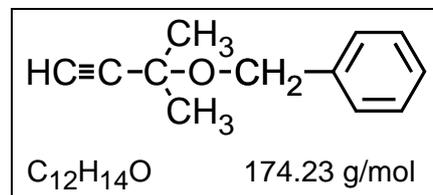
Berechnet für  $\text{C}_{33}\text{H}_{56}\text{O}_7$  (564.81): C, 70.18; H, 9.99. Gemessen: C, 70.23; H, 9.78.

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### 4.4.2. Seitenkettenaufbau unter Verwendung der Benzyl-Schutzgruppe

##### 3-Benzyloxy-3-methyl-but-1-in (MBOB)

4.5 g (150 mmol, 1.5 Äquiv.) NaH (80% in Paraffin) werden unter Argon in einen ausgeheizten Dreihalskolben gegeben und 5x mit je 30 ml *n*-Hexan gewaschen. Dabei wird das *n*-Hexan mit einer Kanüle über ein Septum zugeführt und auch wieder abgesaugt. Das restliche *n*-Hexan wird danach durch ein leichtes Vakuum vorsichtig entfernt. Nach Zugabe von 30 ml abs. THF wird auf 0°C gekühlt und es werden 9.77 ml (100 mmol) **MBO** addiert. Nach beendeter H<sub>2</sub>-Entwicklung erfolgt die langsame Zugabe von 17.84 ml (150 mmol, 1.5 Äquiv.) Benzylbromid, wobei die Temperatur bei 0°C gehalten wird. Die Reaktion wird für weitere 4 h gekühlt, dann wird langsam auf RT erwärmt und über Nacht weiter gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgt durch das Lösen des Niederschlages in H<sub>2</sub>O. Die org. Phase wird mit Brine gewaschen und die wäßrigen Phasen werden noch zweimal mit Ether extrahiert. Nach dem Trocknen wurde das Rohprodukt eingeeengt und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 100:0 bis 98:2).



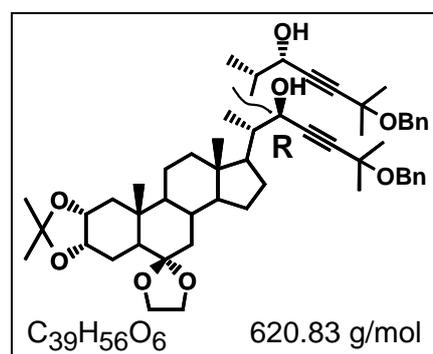
Ausbeute : 13.6 g (78 mmol, 78% d. Th.).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 7.29 (5H, m), 4.64 (2H, s), 2.48 (1H, s), 1.56 (6H, s).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 138.9, 2x128.3, 2x127.7, 127.4, 86.1, 72.2, 70.5, 66.5, 2x28.8.

##### (22*R*)-2α,3α-Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-25-benzyloxy-5α-cholest-23-in (**27**) und das (**22S**)-Isomer **28**

Nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift für die Kopplung von Aldehyd **9** und Synthone (vgl. **11+12**) werden 2.3 g (5.15 mmol) **9** mit 12.9 ml *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 20.6 mmol, 4 Äquiv.) und 4.04 g (23.18 mmol, 4.5 Äquiv.) 3-Benzyloxy-3-methyl-but-1-in (**MBOB**) bei -78°C in abs. THF analog umgesetzt (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.44), aufgearbeitet und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:15 bis 80:20), wobei kleine Mengen **27** und **28** aus dem 1:1 Gemisch der diastereomeren 22-Alkohole getrennt erhalten werden konnten.



Ausbeute : (**27+28**) 3.07 g (4.94 mmol, 96% d. Th.).

Analytische HPLC: LiCrospher 100 RP 18, MeCN:H<sub>2</sub>O = 80:20, *R<sub>t</sub>* = **28**: 5.53 min,

**27**: 8.22 min; YMC ODS, MeCN:H<sub>2</sub>O = 95:5, *R<sub>t</sub>* = **28**: 9.20, **27**: 12.07 min.

Präparative HPLC: YMC ODS, 250x20, MeCN:H<sub>2</sub>O = 95:5.

EI-MS :  $m/z$  (%) = 620 ( $M^+$ ; 13), 605 (84), 514 (27), 417 (28), 409 (90), 359 (46), 239 (51), 99 (100), 91 (86).

HR-MS :  $m/z$  = 620.4066 (berechnet für  $C_{39}H_{56}O_6$  620.4076), 605.3820 (berechnet für  $C_{38}H_{53}O_6$  605.3841), 409.2402 (berechnet für  $C_{26}H_{33}O_4$  409.2425).

**27** : Schmp.: amorph.  $[\alpha]_D^{28}$ : +60.1 ( $c = 1.3$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3391$  (m), 1710 (m), 1457 (s), 1377 (s), 1243 (w), 1058 (m), 721 (s).

UV :  $\lambda_{max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 257 nm (0.49), 219 nm (2.62).

**28** : Schmp.: amorph.  $[\alpha]_D^{26}$ : +27.4 ( $c = 1.0$ , MeOH).

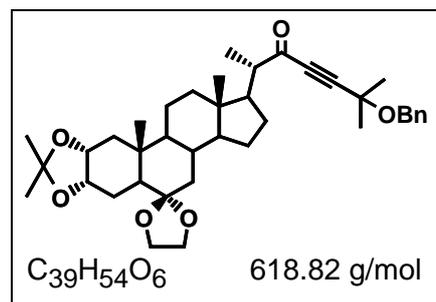
IR (Nujol) :  $\nu = 3386$  (w), 1710 (w), 1457 (s), 1377 (s), 1243 (w), 1057 (m), 721 (m).

UV :  $\lambda_{max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 257 nm (0.29), 219 nm (2.53).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-25-benzyloxy-5 $\alpha$ -cholest-23-in-22-on (29)

2.7 g (4.35 mmol) des Gemisches **27+28** werden wie für **13** beschrieben in 150 ml  $CH_2Cl_2$  gelöst, mit 1.5 g (6.92 mmol, 1.6 Äquiv.) PCC versetzt, 20 h bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f = 0.48$ ) und danach an Kieselgel gebunden. Chromatographiert wird mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30.



Ausbeute : 2.34 g ( 3.78 mmol, 87% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{28}$  : +12.4 ( $c = 1.0$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3387$  (w), 2208 (w), 1710 (m), 1676 (m), 1456 (s), 1377 (s), 1244 (w), 1086 (w), 1057 (m), 891 (w).

UV :  $\lambda_{max}$  ( $\lg \epsilon$ ) 1mg/5ml = 257 nm (0.2), 219 nm (2.55).

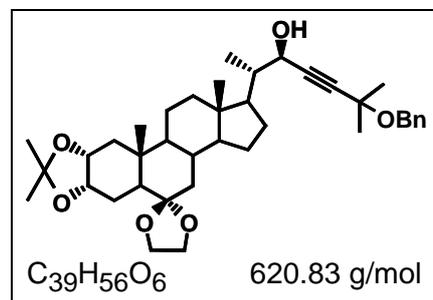
EI-MS :  $m/z$  (%) = 618 ( $M^+$ ; 18), 603 (100), 512 (23), 407 (95), 239 (32), 99 (38), 91 (68).

HR-MS :  $m/z$  = 603.3707 (berechnet für  $C_{38}H_{51}O_6$  603.3684), 407.2192 (berechnet für  $C_{26}H_{31}O_4$  407.2223), 239.1332 (berechnet für  $C_{13}H_{19}O_4$  239.2283).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-25-benzyloxy-5 $\alpha$ -cholest-23-in (27)**

2.2 g (3.55 mmol) **29** werden in 50 ml abs. THF gelöst, mit einer Argon-Atmosphäre versetzt und nach der Addition von 16.4 ml (0.5 M in THF, 8.2 mmol, 2.3 Äquiv.) 3 Tage bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 6:4;  $R_f$  = 0.44). Nach dieser Zeit wird an Kieselgel gebunden und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).

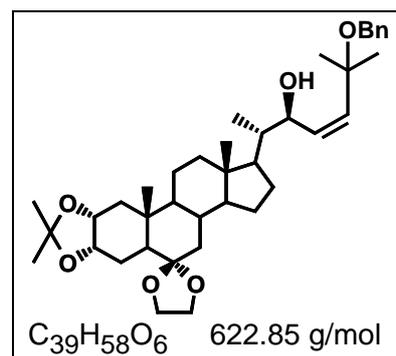


Ausbeute : 2.0 g (3.27 mmol, 92% d. Th.).

Analytische Daten vgl. **27+28**.

**(22R,23Z)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-25-benzyloxy-5 $\alpha$ -cholest-23-en (30)**

Der P2-Nickel Katalysator (1 Äquiv.) wird hergestellt wie in der Arbeitsvorschrift für **14** beschrieben. 1.9 g (3.06 mmol) **27**, gelöst in 20 ml EtOH, werden über Nacht unter einer  $H_2$ -Atmosphäre mit dem Katalysator gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.52), aufgearbeitet und mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 chromatographiert.



Ausbeute : 1.8 g (2.9 mmol, 95% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{29}$  : +27.7 ( $c$  = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3395 (w), 1457 (s), 1377 (s), 1365 (w), 1242 (w), 1215 (w), 1173 (w), 1087 (w), 1058 (m).

UV :  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 257 nm (0.36), 219 nm (2.59).

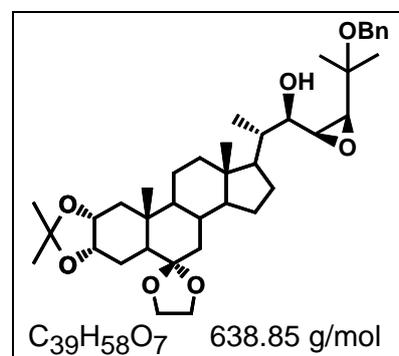
EI-MS :  $m/z$  (%) = 607 ( $[M-15]^+$ ; 28), 514 (60), 418 (82), 360 (100), 239 (9), 99 (15).

HR-MS :  $m/z$  = 607.3947 (berechnet für  $C_{38}H_{53}O_6$  607.3998), 514.3643 (berechnet für  $C_{32}H_{50}O_5$  514.3658).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23S,24R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-23,24-epoxy-25-benzyloxy-5 $\alpha$ -cholestan (31)**

1.7 g (2.73 mmol) **30** in 70 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden analog zu **15a** mit 1.16 g (8.19 mmol, 3 Äquiv.) wasserfreiem gepulvertem Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> und 1.22 g MCPBA (ca. 85%, 6.0 mmol, 2.2 Äquiv.) für 20 h bei 5°C gerührt. Nach der Aufarbeitung mit 45 ml NaOH (0.5 N) wird das Rohprodukt **31** (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.35) mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 chromatographiert.



Ausbeute : 1.28 g (2.0 mmol, 74% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{25}$  : +36.4 (*c* = 1.1, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3444 (m), 1713 (m), 1457 (s), 1377 (s), 1243 (m), 1215 (m), 1086 (w), 1055 (m), 732 (m).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) 1mg/5ml = 225 nm (0.55), 210 nm (2.03).

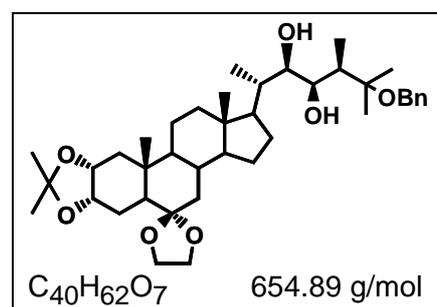
EI-MS : *m/z* (%) = 638 (M<sup>+</sup>; 2), 623 (10), 427 (23), 418 (10), 360 (18), 239 (20), 99 (43), 91 (100).

HR-MS : *m/z* = 638.4087 (berechnet für C<sub>39</sub>H<sub>58</sub>O<sub>7</sub> 638.4182), 623.3935 (berechnet für C<sub>38</sub>H<sub>55</sub>O<sub>7</sub> 623.3947), 427.2570 (berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub> 427.2485).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23R,24R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22,23-dihydroxy-24-methyl-25-benzyloxy-5 $\alpha$ -cholestan (32)**

100 mg (0.15 mmol) **31** werden in abs. *n*-Hexan/Cyclohexan gelöst (vgl. **16**) und mit 0.38 ml Me<sub>3</sub>Al (2 M in *n*-Hexan, 0.75 mmol, 5 Äquiv.) und 0.19 ml *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 0.3 mmol, 2 Äquiv.) umgesetzt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 95:5; *R<sub>f</sub>* = 0.36). Nach der Aufarbeitung wird **32** chromatographiert (Hexan:EtOAc = 80:20 bis 50:50).



Ausbeute : 11.8 mg (0.018 mmol, 12% d. Th.).

Schmp. : amorph.

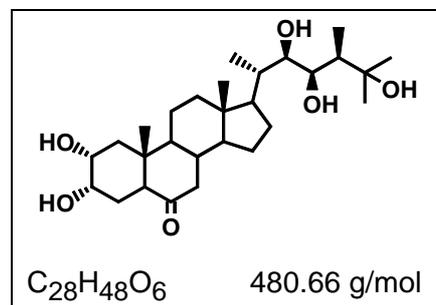
$[\alpha]_D^{29}$  : +12.1 (*c* = 1.2, MeOH).

EI-MS : *m/z* (%) = 654 (M<sup>+</sup>; 0.5), 639 (3), 477 (48), 417 (13), 359 (12), 281 (85), 239 (20), 99 (52), 91 (100).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 25-Hydroxycastasteron, (22R,23R,24R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23,25-Pentahydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (33)

11 mg (0.017 mmol) **32**, gelöst in 1 ml AcOH:H<sub>2</sub>O = 80:20, werden für 1 h auf 50°C am Rückfluß erwärmt. Nach Neutralisation mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> wird das Zwischenprodukt in 2 ml MeOH und 1 ml EtOAc gelöst, mit wenig Katalysator (5% Pd auf Kohle) versetzt und unter einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre hydriert (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10; R<sub>f</sub> = 0.23). Aufgearbeitet wird durch Abfiltrieren des Katalysators, Einengen und Chromatographieren an Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 100:0 bis 90:10).



Ausbeute : 6.6 mg (0.14 mmol, 81% d. Th.).

Schmp. : 301-302°C (aus MeOH).

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>27</sup> : -5.7 (c = 1.1, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3539 (w), 3428 (s), 1737 (w), 1702 (s), 1460 (s), 1376 (m), 1156 (w), 1041 (w), 984 (w), 721 (w), 586 (w).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 289 nm (0.02), 225 nm (0.05).

EI-MS : m/z (%) = 479 ([M-H]<sup>+</sup>, 8), 464 (5), 460 (5), 417 (9), 377 (32), 363 (83), 345 (100), 327 (53), 303 (27), 173 (11), 129 (18), 111 (12), 100 (30), 85 (28).

ESI-MS : Positives Ionen ESI-MS (API CID, 10V): m/z (%) = 481 ([M+H]<sup>+</sup>, 85), 463 ([M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 49), 445 ([M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 4), 393 ([M+H-88]<sup>+</sup>, 100), 375 ([393-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 15), 357 ([393-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 2).

Negatives Ionen ESI-MS (API CID, 25V): m/z (%) = 539 ([M+OAc]<sup>-</sup>, 91), 479 ([M-H]<sup>-</sup>, 100).

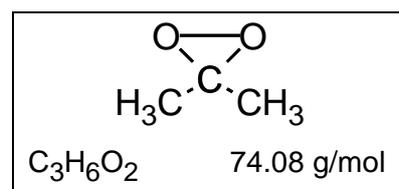
mono-Dansylaminophenylboronat: Positives Ionen ESI-MS: m/z (%) = 815 ([M+H]<sup>+</sup>, 100), 797 ([M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 12), 727 ([M+H-87]<sup>+</sup>, 70).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### 4.4.3. Seitenkettenaufbau über 25-Hydroxy-23-epidolichosteron

##### Dimethyldioxiran (DMD)

Ein 2 l Dreihalskolben wird versehen mit einem effizienten Magnetrührer und einem Feststofftrichter (NS 29). Dieser mit Eis/H<sub>2</sub>O auf 5-10°C gekühlte Kolben ist durch ein U-Rohr mit einem auf -78°C gekühltem Zweihalskolben verbunden. In den Reaktionskolben wird



mit einer Mischung aus 152 ml H<sub>2</sub>O und 96 ml Aceton gefüllt und es werden 29 g NaHCO<sub>3</sub> hinzugegeben. Während stark gerührt wird, erfolgt jetzt die Addition von 60 g Carot (Tripelsalz, Oxon -> aktives Agenz KHSO<sub>5</sub>) in 5 Portionen in 3 Minuten Intervallen.

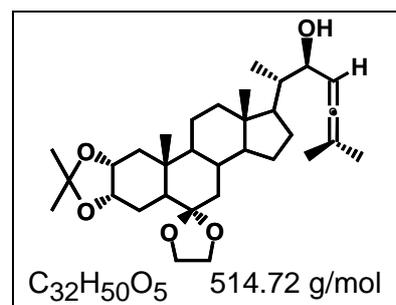
Nach der letzten Zugabe wird ein Vakuum von 80-100 Torr erzeugt, das Kühlbad vom Reaktionskolben entfernt und das Aceton/**DMD** Gemisch destilliert und im Vorlauf kondensiert. Die entstandene Lösung wird auf Peroxide getestet, mit  $K_2CO_3$  getrocknet und bei  $-20^\circ C$  über Molsieb 4A gelagert.

Ausbeute : Ca. 75 ml einer ca. 0.1 M Lösung, die Ausbeute liegt bei ca. 5%.

**Peroxidtest:** Für den Nachweis der Peroxide wird ein Filterpapier mit einer gesättigten Lsg. von Kaliumiodid benetzt. Bei Vorhandensein von Peroxiden wird durch die zu testende Lsg. eine Braunfärbung hervorgerufen.

**(22R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-5 $\alpha$ -cholesta-23,24-dien (34)**

Zu einer bei  $0^\circ C$  gerührten Lösung von 1 g (1.6 mmol) **20** in abs. Ether werden 123 mg (3.25 mmol, 2 Äquiv.)  $LiAlH_4$  addiert. Nach 10 min wird auf  $40^\circ C$  erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 1-2 h gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.50) wird auf RT abgekühlt und das überschüssige  $LiAlH_4$  wird mit gesättigter Kalium-Natrium-Weinsäuretartrat-Lösung zerstört. Es wird mit EtOAc und halbgesättigter NaCl-Lösung verdünnt, die Phasen werden getrennt, die wässrige noch zweimal mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen anschließend über  $Na_2SO_4$  getrocknet und einrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 70:30).



Ausbeute : 660 mg (1.28 mmol, 80% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{27}$  : +33.7 ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3407$  (m), 1713 (m), 1461 (s), 1377 (s), 1242 (w), 1216 (w), 1085 (w), 1056 (m), 721 (w).

UV :  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) 1mg/5ml = 270 nm (0.25), 224 nm (0.70).

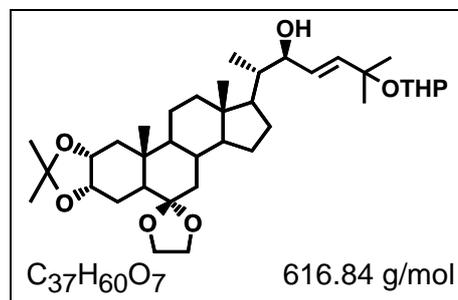
EI-MS :  $m/z$  (%) = 514 ( $M^+$ ; 6), 499 (13), 417 (16), 359 (100), 303 (18), 239 (10), 235 (23), 207 (17), 99 (52), 98 (57), 97 (54).

HR-MS :  $m/z = 514.3676$  (berechnet für  $C_{32}H_{50}O_5$  514.3694), 417.2994 (berechnet für  $C_{26}H_{40}O_7$  417.2983), 359.2577 (berechnet für  $C_{23}H_{35}O_3$  359.2568).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*,23*E*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22-hydroxy-25-(tetrahydropyran-2'-yloxy)-5 $\alpha$ -cholest-23-en (35)**

Zu einer bei 0°C gerührten Lösung aus 250 mg (0.4 mmol) **20** in 5 ml abs. THF werden 123 mg (0.8 mmol, 2 Äquiv.) Red-Al® addiert. Die Reaktionsmischung wird bei RT für weitere 3-4 Tage gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.40) wird durch Zugabe von EtOAc und gesättigter Kalium-Natrium-Weinsäuretartrat-Lösung abgebrochen. Das Produktgemisch wird 3x mit EtOAc extrahiert, mit Brine gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und einrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 70:30).



Ausbeute : **35**: 158 mg (.0.26 mmol, 64% d. Th.); **34**: 56.6 mg ( 0.11 mmol, 28% d Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{29}$  : +28.4 ( $c$  = 1.2, MeOH).

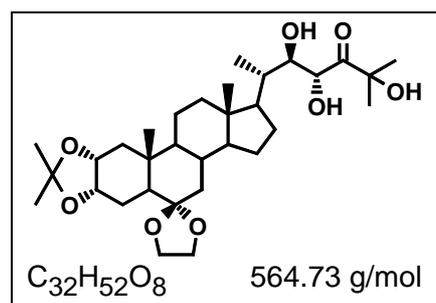
IR (Nujol) :  $\nu$  = 3487 (s), 1461 (m), 1379 (s), 1242 (w), 1216 (w), 1174 (w), 1058 (m).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 601 ([M-15]<sup>+</sup>; 5), 418 (28), 360 (100), 303 (15), 239 (12), 99 (19), 97 (55), 85 (63).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*, 23*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22,23,25-trihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-24-on (36)**

1.2 g (2.32 mmol) **34** werden in 120 ml abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und bei RT mit 50 ml einer ca. 5%-igen Dimethyldioxiran-Lsg. in Aceton versetzt. Nachdem eine halbe Stunde gerührt wurde, ist **34** vollständig umgesetzt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.37). Der Ansatz wird daraufhin an Kieselgel gebunden und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 75:25).



Ausbeute : 995 mg (1.76 mmol, 76% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{27}$  : +11.2 ( $c$  = 1.1, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3395 (s), 1765 (s), 1715 (m), 1458 (s), 1377 (s), 1242 (m), 1215 (m), 1173 (w), 1083 (w), 1058 (w), 1034 (w), 991 (w), 894 (w), 858 (m), 721 (w).

UV :  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 308 nm (0.12), 263 nm (0.15).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 546 (M-H<sub>2</sub>O; 13), 531 (32), 417 (4), 359 (5), 335 (100), 239 (23), 235 (3), 178 (17), 99 (37).

HR-MS :  $m/z = 546.3554$  (berechnet für  $C_{32}H_{50}O_7$  546.3552), 531.3352 (berechnet für  $C_{31}H_{47}O_7$  531.3383), 335.1848 (berechnet für  $C_{19}H_{27}O_5$  335.1837).  
 $^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### Diastereomerer 23-Alkohol 36a nach der Keto-Enol-Tautomerie

Schmp. : amorph.  $[\alpha]_D^{24} : +108.3$  ( $c = 1.1$ , MeOH).

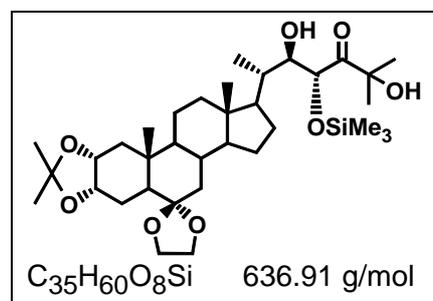
IR (Nujol) :  $\nu = 3325$  (s), 1766 (s), 1714 (m), 1462 (s), 1376 (s), 1244 (m), 1217 (m), 1174 (w), 1079 (w), 1053 (w), 1040 (w), 996 (w), 890 (m), 857 (m), 721 (w).

UV :  $\lambda_{max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 303 nm (0.12).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### (22R, 23R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-23-trimethylsilyloxy-22,23,25-trihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-24-on (37)

380 mg (0.67 mmol) **36** werden in 30 ml abs. Pyridin gelöst und mit einer Spatelspitze DMAP versetzt. Zu dieser Lösung werden bei RT 875  $\mu$ l (6.9 mmol, 10 Äquiv.) Trimethylsilylchlorid addiert. Nach 24 h Reaktionsdauer (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f = 0.61$ ) wird nach Zugabe von Toluol einrotiert, an Kieselgel gebunden und das Rohprodukt **37** wird chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 85:15).



Ausbeute : 357 mg (0.56 mmol, 84% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{27} : +52.9$  ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3388$  (s), 1765 (w), 1708 (m), 1461 (s), 1377 (s), 1251 (w), 1049 (w), 845 (m), 756 (w), 721 (w).

UV :  $\lambda_{max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 291 nm (0.76).

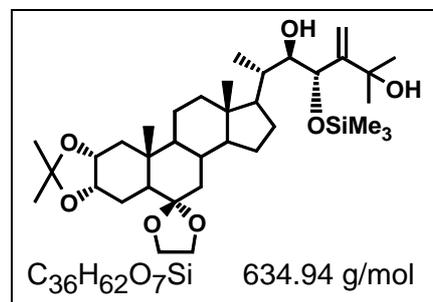
EI-MS :  $m/z$  (%) = 618 ( $[M-H_2O]^+$ ; 12), 603 (11), 546 (14), 531 (38), 519 (15), 461 (28), 407 (23), 335 (88), 239 (18), 172 (28), 157 (100), 143 (47).

HR-MS :  $m/z = 618.4008$  (berechnet für  $C_{35}H_{58}O_7Si$  618.4065), 603.3728 (berechnet für  $C_{34}H_{55}O_7Si$  603.3739), 546.3571 (berechnet für  $C_{32}H_{50}O_7$  546.3586), 461.3269 (berechnet für  $C_{28}H_{45}O_5$  461.3271), 407.2235 (berechnet für  $C_{22}H_{35}O_5Si$  407.2254), 335.1841 (berechnet für  $C_{19}H_{27}O_5$  335.1823), 172.0910 (berechnet für  $C_8H_{16}O_2Si$  172.0919), 157.0691 (berechnet für  $C_7H_{13}O_2Si$  157.0698).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*, 23*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-23-trimethylsilyloxy-22,23,25-trihydroxy-5 $\alpha$ -ergost-24(28)-en (38)**

1. Ylid-Bildung: 500 mg (20 mmol) NaH (80% in Paraffin) werden 8x mit *n*-Hexan gewaschen und dekantiert. Nach dem Entfernen des Paraffins werden 30 ml abs. Toluol addiert und die Mischung wird für 45 min auf 80°C erwärmt (H<sub>2</sub>-Entwicklung). Danach wird unter Argon langsam auf 0°C gekühlt und es werden 8.3 g (20 mmol, 97%-ig) Ph<sub>3</sub>PMel addiert. Nach dem Entfernen des Kühlbades wird die Mischung für einige Tage gerührt, der Fortgang der Reaktion kann anhand der Gelbfärbung (Ylid) beobachtet werden.



2. Wittig-Reaktion: 250 mg (0.41 mmol) **37** werden in 10 ml abs. Toluol gelöst und unter Argon mit 10 ml der Ylid-Lösung versetzt (NaH vor Entnahme absetzen lassen). Im Anschluß daran wird für 24 h bei 60°C gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.62), einrotiert und an Kieselgel chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 70:30).

Ausbeute : 83 mg (0.13 mmol, 64% bezogen auf umgesetztes **37**).

Schmp. : amorph.

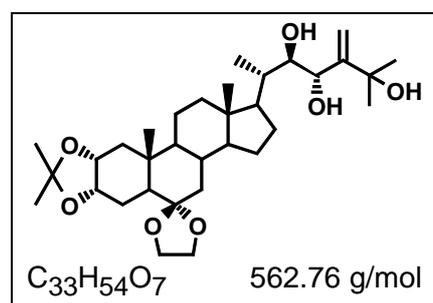
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>27</sup> : 65.4 (*c* = 1.0, MeOH).

EI-MS : *m/z* (%) = 546 ([M-88]<sup>+</sup>, 7), 531 (13), 447 (10), 407 (11), 389 (53), 345 (22), 335 (36), 277 (24), 239 (13), 233 (23), 147 (100), 127 (35), 98 (52).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*, 23*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-22,23,25-trihydroxy-5 $\alpha$ -ergost-24(28)-en (39)**

281 mg (0.5 mmol) **36** werden in 5 ml abs. THF gelöst, auf 0°C gekühlt und unter Argon gesetzt. Zu dieser Lösung werden 1.1 ml (1.06 mmol, 1.2 Äquiv.) einer 0.5 M Lsg. Tebbe Reagenz in THF addiert. Nach 24 h ist der Ausgangsstoff umgesetzt (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.42). Die Reaktion wird mit EtOAc verdünnt und mit 5 Tropfen 0.5 N NaOH gestoppt. Nach dem Trocknen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird über eine Celit-Schicht filtriert. Anschließend wird die rot-orange Lösung einrotiert und an Kieselgel chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 70:30).



Ausbeute : 150 mg (0.26 mmol, 53% d. Th.).

Schmp. : amorph.

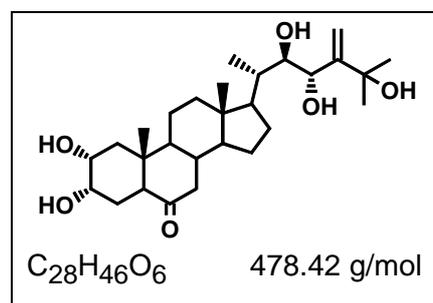
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23</sup> : +77.9 (*c* = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3400 (s), 1711 (m), 1458 (s), 1377 (s), 1241 (w), 1217 (w), 1171 (w), 894

- (w), 859 (w), 790 (w), 721 (m).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 212.8 nm (2.2), 227 nm (0.7).  
 EI-MS :  $m/z$  (%) = 544 ([M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>; 7), 529 (21), 447 (22), 417 (4), 389 (100), 359 (15), 333 (43), 239 (12), 235 (8), 178 (7), 127 (52), 99 (28).  
 HR-MS :  $m/z$  = 544.3758 (berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>6</sub> 544.3753), 447.3102 (berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>43</sub>O<sub>5</sub> 447.3091), 389.2699 (berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>37</sub>O<sub>4</sub> 389.2706).  
<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23,25-Pentahydroxy-5 $\alpha$ -ergost-24(28)-en-6-on (40)**

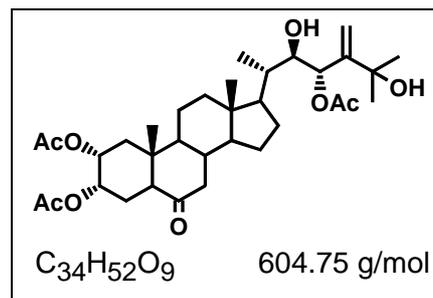
130 mg (0.23 mmol) **39**, gelöst in 10 ml AcOH:H<sub>2</sub>O = 80:20, werden für 1 h auf 50°C am Rückfluß erwärmt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10;  $R_f$  = 0.53). Es wird mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> neutralisiert, mit halbgesättigter Brine gewaschen und die org. Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Die Reinigung von **40** erfolgt durch Kristallisation aus CHCl<sub>3</sub>/MeOH.



- Ausbeute : 99 mg (0.21 mmol, 90% d. Th.).  
 Schmp. : 110-112°C (aus CHCl<sub>3</sub>/MeOH).  
 $[\alpha]_D^{27}$  : +50.4 ( $c$  = 1.1, MeOH).  
 IR (Nujol) :  $\nu$  = 3391 (m), 1710 (s), 1457 (s), 1376 (s), 1159 (w), 1077 (w), 721 (s).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 278 nm (0.69).  
 EI-MS :  $m/z$  (%) = 479 ([M+H]<sup>+</sup>, 2), 460 (11), 442 (14), 402 (15), 315 (26), 303 (32), 256 (25), 149 (38) 127 (100), 109 (45), 81 (39).  
 ESI-MS : Positives Ionen ESI-MS (API CID, 10V):  $m/z$  (%) = 501 ([M+Na]<sup>+</sup>, 100), 479 ([M+H]<sup>+</sup>, 20), 461 ([M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 58), 443 ([M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 89), 425 ([M+H-3H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 27), 407 ([M+H-4H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 10).  
 Negatives Ionen ESI-MS (API CID, 25V):  $m/z$  (%) = 519 [M+AcO-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>.  
<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-Triacetoxy-22,25-dihydroxy--5 $\alpha$ -ergost-24(28)-en-6-on (41)**

Für die Acetylierung werden 100 mg (0.21 mmol) **40** in 4 ml abs. Pyridin gelöst und mit 4 ml abs. Acetanhydrid sowie einer Spatelspitze DMAP versetzt. Es wird 3 Tage bei RT und anschließend 5 h bei 70°C gerührt und danach mit Toluol einrotiert (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.45). Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).



Ausbeute : 103 mg (0.17 mmol, 82% d. Th.).

Schmp. : 208-210°C.

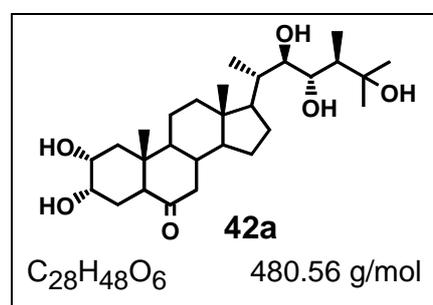
$[\alpha]_D^{29}$  : +10.0 ( $c = 1.0$ , MeOH).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 571 ( $[M-Me-H_2O]^+$ , 3), 554 (5), 526 (30), 511 (22), 489 (50), 447 (23), 387 (47), 369 (14), 345 (84), 327 (81), 309 (15), 269 (17), 189 (18), 169 (93), 140 (100), 127 (24), 109 (29), 97 (28).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### (22R,23S,24R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23,25-Pentahydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (42a) und das (24S)-Isomer 42b

30 mg (0.05 mmol) **41** werden in 3 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe einer Spatelspitze 10% Pd auf Aktivkohle unter einer  $H_2$ -Atmosphäre für 30 h gerührt. Danach wird der Katalysator abgetrennt und eingeeengt. Das resultierende Zwischenprodukt wird in 2 ml abs. Methanol gelöst, mit 1 ml 0.5 M Natriummethylat-Lsg. versetzt und über Nacht bei RT gerührt (DC  $CHCl_3$ :MeOH = 90:10;  $R_f = 0.60$ ). Nach beendeter Reaktion wird mit Essigsäure neutralisiert, einrotiert, in  $CHCl_3$  aufgenommen und 2x mit Brine gewaschen. Nach dem Trocknen über  $Na_2SO_4$  wird durch einrotieren das Gemisch **42a+42b** erhalten.



Ausbeute : 21 mg (0.043 mmol, 87% d. Th.).

ESI-MS : Positives Ionen ESI-MS (API CID, 10V):  $m/z$  (%) = 524 (30), 503 (24), 463 ( $[M+H-H_2O]^+$ , 4), 333 (22); 313 (100); 292 (64).

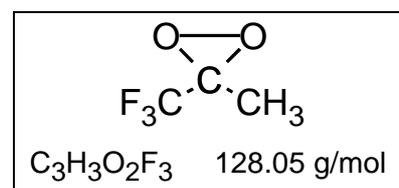
Negatives Ionen ESI-MS (API CID, 25V):  $m/z$  (%) = 521  $[M+AcO-H_2O]^-$ .

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

#### 4.4.4. Synthese von 25-Hydroxycastasteron und 25-Hydroxybrassinolid durch Oxyfunktionalisierung mit Methyl(trifluormethyl)dioxiran

##### Methyl(trifluormethyl)dioxiran, 1,1,1-Trifluordimethyldioxiran (TFD)

Ein mit einem Eisbad gekühlter 250 ml Dreihalskolben mit Magnetrührer und Zugabetrichter wird über eine Brücke mit dem oberen Ende eines Intensivkühlers verbunden, der mit auf  $-78^\circ C$  gekühltem Ethanol als Kühlmittel betrieben wird (Scheidetrichter als Vorratsgefäß). Am unteren Ende dieses Intensivkühlers befindet sich ein gerader Vorstoß

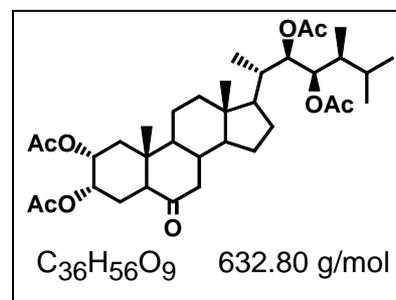


(mit einem seitlichen Anschluß für das Anlegen des Vakuums) und ein auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlter 50 ml Einhalskolben. Für das geringe Vakuum wurde eine Membranpumpe mit automatischer Regelung eingesetzt, die jedoch durch das Zwischenschalten eines 1 l Kolbens und eines Drehventil in Ihrer Leistung gedämpft wurde. Weiterhin benötigt wird ein Tropftrichter, der auf  $4^{\circ}\text{C}$  gekühlt das ebenfalls gekühlte Trifluoracetone (10 ml) aufnimmt und im Kühlschrank gelagert wird. Nach diesen Vorbereitungen werden in den Reaktionskolben 10.8 ml  $\text{H}_2\text{O}$  (Millipore) und 10.8 g  $\text{NaHCO}_3$  eingefüllt. Danach werden 6.66 g Caroot (Tripelsalz, Oxon) schnell in den Kolben über den Feststofftrichter addiert und die Gasentwicklung von ca. 90 s abgewartet. Innerhalb einer Minute wird nun das vorgekühlte Trifluoracetone zugetropft und im Anschluß daran ein Vakuum von 715 Torr angelegt. Dabei geht die schwach gelbe Lösung von **TFD** in Trifluoracetone über und tropft in die Vorlage. Nach 5-8 min wird eine weitere Portion von 6.66 g Caroot addiert und noch einmal für 10 min gerührt. Die Vorlage wird belüftet, kurz auf RT erwärmt, um gelöstes  $\text{CO}_2$  zu entfernen und dann mit einer Aluminiumfolie umhüllt bei  $-78^{\circ}\text{C}$  gelagert.

Ausbeute : 4-6 ml einer ca. 0.4-0.6 M Lösung von **TFD** in Trifluoracetone. Die Ausbeute beträgt daher ca. 2%.

#### (22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetraacetoxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (43)

Für die Acetylierung werden 300 mg (0.64 mmol) **17** in 12 ml abs. Pyridin gelöst und mit 12 ml abs. Acetanhydrid sowie einer Spatelspitze DMAP versetzt. Es wird über Nacht bei RT gerührt und danach mit Toluol einrotiert (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f = 0.31$ ). Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).



Ausbeute : 336 mg (0.53 mmol, 83% d. Th.).

Schmp. :  $206-209^{\circ}\text{C}$ .

$[\alpha]_D^{27}$  : +1.2 ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3628$  (w), 3442 (w), 1736 (s), 1458 (s), 1377 (s), 1253 (s), 1038 (m).

UV :  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 280 nm (0.12), 220 nm (1.25).

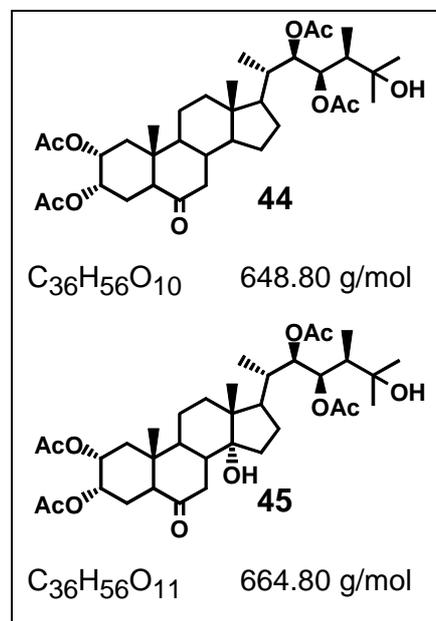
EI-MS :  $m/z$  (%) = 632 ( $\text{M}^+$ , 2), 572 (98), 530 (15), 512 (50), 497 (27), 429 (21), 388 (74), 387 (82), 369 (21), 345 (79), 327 (100), 309 (30), 269 (22), 83 (98).

$^1\text{H-NMR}/^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetraacetoxy-25-hydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (44);**

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetraacetoxy-14 $\alpha$ ,25-dihydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (45)**

272 mg (0.43 mmol) **43**, gelöst in 25 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (dest. über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub>) werden mit 950  $\mu$ l (1.1 Äquiv.) einer ca. 0.5 M Lösung von **TFD** in Trifluoraceton versetzt und bei 5°C gerührt (DC Hexan:EtOAc = 70:30; **44**  $R_f$  = 0.47, **45**  $R_f$  = 0.30). Der Peroxidtest war nach 4 h negativ und der Ansatz wurde daraufhin einrotiert und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 25:75). Nach der Säule wurden 116 mg **43**, 125 mg **44** und 27 mg **45** erhalten. Wird ein Überschuß an **TFD** verwendet, so erhöht sich der Umsatz und der Anteil von **45**.



**44** : Ausbeute: 125 mg (0.18 mmol, 72% bezogen auf umgesetzttes **43**).  
Schmp. : 209-211°C (aus CHCl<sub>3</sub>/MeOH).  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> : +4.3 (c = 1.1, MeOH).  
IR (Nujol) :  $\nu$  = 3472 (w), 1732 (s), 1708 (s), 1457 (s), 1375 (s), 1256 (s), 1037 (m).  
UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 283nm (0.14).  
EI-MS :  $m/z$  (%) = 646 (M<sup>+</sup>, 1), 631 (3), 588 (24), 586 (18), 570 (17), 561 (13), 528 (17), 513 (28), 470 (94), 417 (28), 387 (74), 345 (43), 327 (42), 297 (100), 82 (92).

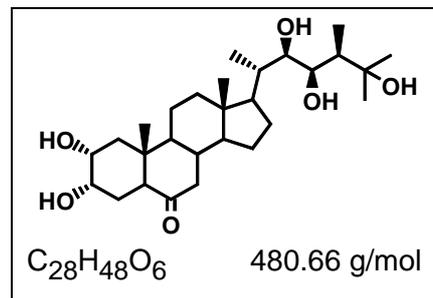
**45** : Ausbeute: 27 mg (0.05 mmol, 16% bezogen auf umgesetzttes **43**).  
Schmp. : 236-238°C (aus CHCl<sub>3</sub>/MeOH).  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> : +9.2 (c = 1.0, MeOH).  
IR (Nujol) :  $\nu$  = 3484 (w), 1741 (s), 1709 (s), 1457 (s), 1376 (s), 1269 (m), 1032 (m).  
UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 283nm (0.12).  
EI-MS :  $m/z$  (%) = 664 (M<sup>+</sup>, 7), 646 (11), 631 (5), 588 (8), 586 (18), 568 (14), 544 (15), 526 (74), 508 (64), 468 (28), 405 (53), 387 (71), 343 (29), 325 (47), 285 (46), 171 (59), 141 (87), 111 (64), 82 (100).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

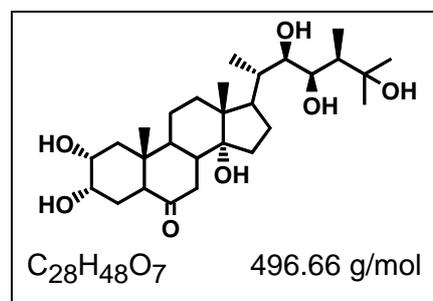
**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23,25-Pentahydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (33)**

Zur Verseifung der Acetyl-Schutzgruppen werden 50 mg (0.077 mmol) **44** in 5 ml KOH/MeOH (5%-ig) gelöst und 24 h bei RT gerührt. (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10;  $R_f$  = 0.23). Nach beendeter Reaktion wird mit 1 N HCl neutralisiert, einrotiert und chromatographiert (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 100:0 bis 92.5:7.5).

Ausbeute : 32 mg (0.067 mmol, 87% d. Th.).  
Analytische Daten vgl. **33** in Abschnitt 4.4.2..

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,14 $\alpha$ ,22,23-Hexahydroxy-24-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (46)**

15 mg (0.0226 mmol) **45** werden in 2 ml abs. Methanol gelöst und mit 1.5 ml 0.5 M Natriummethylat-Lsg. versetzt. Es wird für 5 h bei RT gerührt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10;  $R_f$  = 0.11). Nach beendeter Reaktion wird mit Eisessig neutralisiert, einrotiert und chromatographiert (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 100:0 bis 90:10).



Ausbeute : 11 mg (0.0221 mmol, 98% d. Th.).

Schmp. : 290-293°C (aus CHCl<sub>3</sub>/MeOH).

$[\alpha]_D^{25}$  : +17.6 ( $c$  = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3387 (s), 1707 (m), 1462 (s), 1377 (m), 1047 (w), 938 (w), 721 (w).

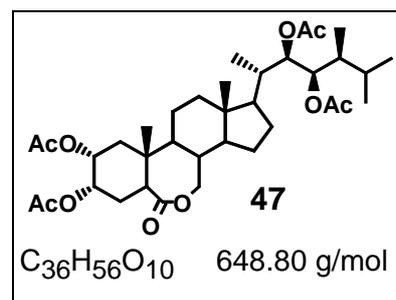
UV :  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 278 nm (0.69).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 497 ([M+H]<sup>+</sup>, 2), 350 (5), 322 (8), 290 (18), 279 (21), 256 (47), 178 (90), 149 (75), 125 (38), 111 (61), 97 (78), 83 (66), 71 (77), 57 (100).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetraacetoxy-24-methyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (47) und das (5 $\alpha$ -oxa)-Isolacton **48****

Die Lactonisierung von 115 mg (0.18 mmol) **43** erfolgt wie für **18** beschrieben in CHCl<sub>3</sub> nach der in situ Darstellung der Trifluorperessigsäure aus 207  $\mu$ l (1.83 mmol, 10 Äquiv.) 30 %-iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung und 1.27 ml (9.15 mmol, 50 Äquiv.) Trifluoressigsäureanhydrid bei 0°C. Nach dem Erwärmen auf RT wird für weitere 2 h gerührt (DC Hexan:EtOAc = 50:50; **47**  $R_f$  = 0.36, **48**  $R_f$  =



0.29) und aufgearbeitet. Mit der Chromatographie an Kieselgel (Hexan:EtOAc = 85:15 bis 50:50) wurden Lacton **47** und Isolacton **48** teilweise getrennt, die weitere Reinigung der Mischfraktionen erfolgte mit HPLC.

Ausbeute : 113 mg (0.17 mmol, 97% d. Th.).

Analytische HPLC: YMC ODS, 250x4.6, MeCN:H<sub>2</sub>O = 65:35,  $R_f$  = **47**: 34.14 min,  
**48**: 30.67 min.

Präparative HPLC: YMC ODS, 150x20, MeCN:H<sub>2</sub>O = 75:25.

**47** : Schmp.: 208-209°C (aus CHCl<sub>3</sub>).

$[\alpha]_D^{26}$  : +31.9 ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3432$  (w), 1738 (s), 1464 (s), 1376 (s), 1245 (m), 1215 (m), 1020 (w).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 280 nm (0.08).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 648 (M<sup>+</sup>, 1), 546 (3), 528 (5), 506 (51), 463 (100), 433 (8), 404 (30), 361 (34), 343 (20), 189 (8), 143 (15), 116 (12), 83 (47).

**48** : Schmp.: 217-218°C (aus CHCl<sub>3</sub>).

$[\alpha]_D^{26}$  : +23.0 ( $c = 1.0$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3435$  (w), 1720 (s), 1456 (s), 1376 (s), 1249 (m), 1041 (w), 1023 (w).

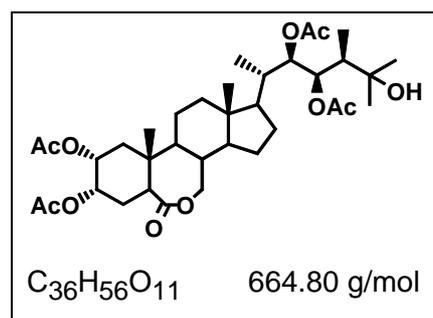
UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 283 nm (0.08).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 648 (M<sup>+</sup>, 2), 588 (2), 548 (5), 546 (4), 528 (9), 506 (48), 463 (100), 433 (6), 404 (22), 386 (12), 361 (5), 343 (38), 325 (33), 285 (5), 83 (23).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetraacetoxy-25-hydroxy-24-methyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (49)**

50 mg (0.077 mmol) **47**, gelöst in 3 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (dest. über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub>) werden mit 320  $\mu$ l (ca. 1.1 Äquiv.) einer ca. 0.5 M Lösung von TFD in Trifluoacetone versetzt und bei 5°C gerührt (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 95:5;  $R_f = 0.67$ ). Der Ansatz wurde mehrere Stunden gerührt, bis der Peroxidtest negativ war, danach einrotiert und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 25:75).



Ausbeute : 17 mg (0.025 mmol, 57% bezogen auf umgesetztes **47**).

Schmp. : 233-235°C (aus CHCl<sub>3</sub>/MeOH).

$[\alpha]_D^{28}$  : +40.2 ( $c = 1.1$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3513$  (w), 1741 (s), 1731 (s), 1462 (s), 1376 (s), 1254 (m), 1021 (w).

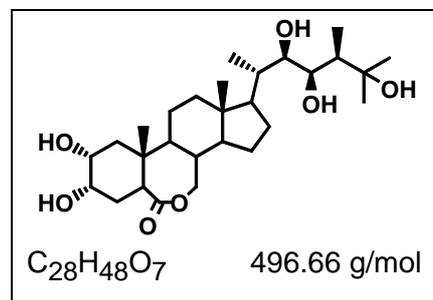
UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 280 nm (0.46).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 647 (2), 577 (20), 544 (26), 526 (19), 506 (18), 475 (21), 463 (39), 433 (44), 415 (32), 403 (48), 355 (32), 285 (20), 153 (48), 141 (77), 121 (100), 111 (47), 99 (50), 93 (95).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23,25-Pentahydroxy-24-methyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (50)**

10 mg (0.015 mmol) **49** werden in 1 ml abs. Methanol gelöst, mit 1 ml 0.5 M Natriummethylat-Lsg. versetzt und 2 h bei RT gerührt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10;  $R_f$  = 0.30). Nach beendeter Reaktion wird mit Essigsäure neutralisiert, einrotiert und chromatographiert (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 100:0 bis 90:10).



Ausbeute : 7.2 mg (0.014 mmol, 97% d. Th.).

Schmp. : 234-235°C.

$[\alpha]_D^{24}$  : +28.5 ( $c = 1.3$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3388$  (s), 1721 (s), 1456 (s), 1376 (s), 1066 (w), 1029 (w), 987 (w).

UV :  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 277 nm (1.22).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 497 ([M+H]<sup>+</sup>, 2), 463 (4), 409 (5), 379 (100), 366 (15), 350 (24), 343 (18), 325 (14), 315 (12), 285 (13), 129 (33), 100 (75), 85 (75).

ESI-MS : Positives Ionen ESI-MS (API CID, 10V):  $m/z$  (%) = 497 ([M+H]<sup>+</sup>, 100), 479 ([M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 8), 461 ([M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 3), 409 ([M+H-88]<sup>+</sup>, 30), 391 ([409-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 10), 373 ([409-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 10), 354 ([409-3H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 3).

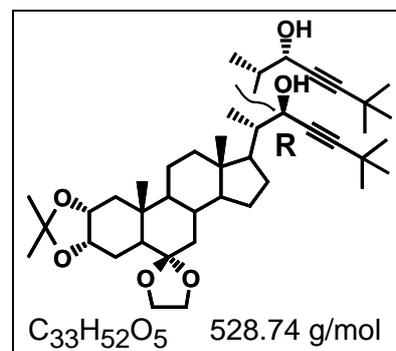
Negatives Ionen ESI-MS (API CID, 25V):  $m/z$  (%) = 539 ([M+OAc]<sup>-</sup>, 91), 479 ([M-H]<sup>-</sup>, 100).

mono-Dansylaminophenylboronat: Positives Ionen ESI-MS:  $m/z$  (%) = 831 ([M+H]<sup>+</sup>, 100), 813 ([M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 5), 744 ([M+H-87]<sup>+</sup>, 18).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**4.5. Synthese von 25-Methylcastasteron und 25-Methylbrassinolid****(22R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-23-in (51) und das (22S)-Isomer 52**

Nach der allg. Arbeitsvorschrift für die Kopplung von Aldehyd **9** und Synthon (vgl. **11+12**) werden 1.0 g (2.27 mmol) **9** mit 5.6 ml *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 9.1 mmol, 4Äquiv.) und 1.26 ml (10.2 mmol, 4.5 Äquiv.) 3,3-dimethyl-but-1-in **DMB** bei -78°C in abs. THF umgesetzt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.50), entsprechend aufgearbeitet und chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:15 bis 80:20), wobei ein 1:1 Gemisch der diastereomeren 22-Alkohole **51+52** erhalten wurde. Die Trennung kleiner Mengen dieses Gemisches erfolgte durch HPLC.



Ausbeute : (**51+52**) 1.07 g (2.02 mmol, 89% d. Th.).

Analytische HPLC: LiCrospher 100 RP 18, MeCN:H<sub>2</sub>O = 80:20,  $R_f$  = **52**: 5.63 min, **51**: 7.86 min; YMC ODS, MeCN:H<sub>2</sub>O = 95:5,  $R_f$  = **52**: 9.82. min, **51**: 12.70 min.

Präparative HPLC: LiCrospher 100 RP 18, 250x10 mm MeCN:H<sub>2</sub>O = 80:20; YMC ODS, 150x20, MeCN:H<sub>2</sub>O = 95:5.

EI-MS :  $m/z$  (%) = 528 (M<sup>+</sup>; 34), 513 (79), 417 (14), 359 (27), 341 (4), 317 (100), 254 (11), 239 (30), 99 (41).

HR-MS :  $m/z$  = 528.3842 (berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>5</sub> 528.3814), 513.3582 (berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>49</sub>O<sub>5</sub> 513.3580), 317.2115 (berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>O<sub>3</sub> 317.2117).

**51** : Schmp.: 110-113°C (aus EtOAc).  $[\alpha]_D^{26}$ : +61.8 ( $c$  = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 1456 (s), 1377 (m), 1216 (w), 1174 (w), 1085 (w), 1058 (w).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 272 nm (0.05), 220 nm (0.31).

**52** : Schmp.: 96-98°C (aus EtOAc).  $[\alpha]_D^{27}$ : +55.3 ( $c$  = 1.1, MeOH).

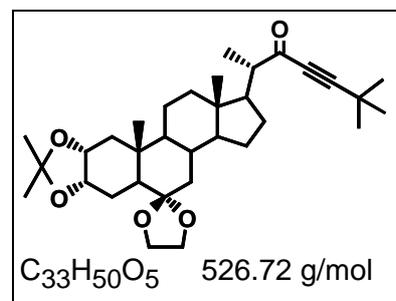
IR (Nujol) :  $\nu$  = 1457 (s), 1377 (m), 1241 (w), 1216 (w), 1174 (w), 1087 (w), 1056 (m).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 272 nm (0.12), 220 nm (0.27).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethylendioxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholest-23-in-22-on (**53**)

800 mg (1.51 mmol) des Gemisches **51+52** werden wie für **13** beschrieben in 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst, mit 520 mg (2.42 mmol, 1.6 Äquiv.) PCC versetzt, 20 h bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.53) und danach an Kieselgel gebunden. Chromatographiert wird mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30.



Ausbeute : 684 mg (1.30 mmol, 86% d. Th.).

Schmp. : 74-77°C (aus EtOAc).

$[\alpha]_D^{22}$  : +27.9 ( $c$  = 1.2, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 2212 (m), 1674 (m), 1457 (s), 1377 (m), 1216 (w), 1174 (w), 1057 (m).

UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 309 nm (0.2), 234 nm (3.1).

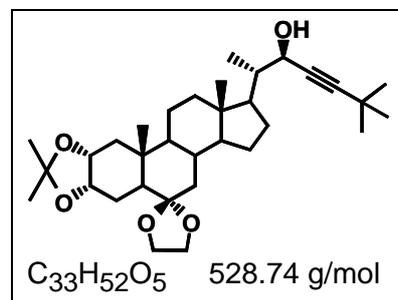
EI-MS :  $m/z$  (%) = 526 (M<sup>+</sup>; 28), 511 (60), 315 (100), 239 (20), 99 (28).

HR-MS :  $m/z$  = 526.3676 (berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>50</sub>O<sub>5</sub> 526.3658), 511.3435 (berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>47</sub>O<sub>5</sub> 511.3423), 315.1959 (berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>O<sub>3</sub> 315.1960).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholest-23-in (51)**

620 mg (1.17 mmol) **53** werden in 20 ml abs. THF gelöst, mit einer Argon-Atmosphäre versehen und nach der Addition von 5.4 ml (0.5 M in THF, 2.7 mmol, 2.3 Äquiv.) 3 Tage bei RT gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.50). Nach dieser Zeit wird an Kieselgel gebunden und chromatografiert (Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30).

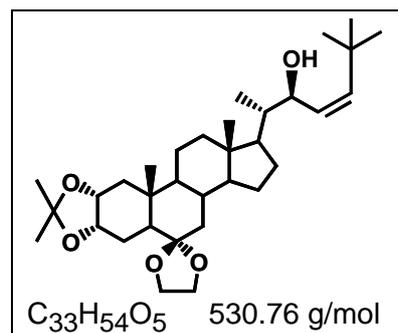


Ausbeute : 529 mg (1.00 mmol, 85% d. Th.).

Analytische Daten vgl. **51**.

**(22R,23Z)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholest-23-en (54)**

Der P2-Nickel Katalysator (1 Äquiv.) wird hergestellt wie in der Arbeitsvorschrift für **14** beschrieben. 500 mg (0.94 mmol) **51**, gelöst in 10 ml EtOH, werden über Nacht unter einer  $H_2$ -Atmosphäre mit dem Katalysator gerührt (DC Hexan:EtOAc = 60:40;  $R_f$  = 0.47), aufgearbeitet und mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 chromatografiert.



Ausbeute : 440 mg (0.83 mmol, 88% d. Th.).

Schmp. : amorph.

$[\alpha]_D^{26}$  : +22.9 ( $c = 1.0$ , MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu = 3410$  (s), 1710 (m), 1460 (s), 1377 (s), 1242 (w), 1215 (w), 1055 (m).

UV :  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 225 nm (0.64).

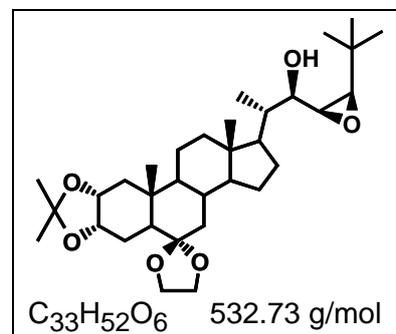
EI-MS :  $m/z$  (%) = 530 ( $M^+$ ; 5), 515 (43), 418 (62), 403 (35), 359 (100), 319 (58), 239 (21), 207 (38), 99 (40).

HR-MS :  $m/z$  = 530.3994 (berechnet für  $C_{33}H_{54}O_5$  530.4017), 418.3108 (berechnet für  $C_{26}H_{42}O_4$  418.3132), 319.2290 berechnet für  $C_{20}H_{31}O_3$  319.2307).

$^1H$ -NMR/ $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*,23*S*,24*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22-hydroxy-23,24-epoxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan (55)**

410 mg (0.77 mmol) **54** in 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden analog zu **15a** mit 327 g (2.31 mmol, 3 Äquiv.) wasserfreiem gepulvertem Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> und 313 mg MCPBA (ca. 85%, 1.54 mmol, 2.2 Äquiv.) für 20 h bei 5°C gerührt. Nach der Aufarbeitung mit 13 ml NaOH (0.5 N) wird das Rohprodukt **55** (DC Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.30) mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 90:10 bis 70:30 chromatographiert.



Ausbeute : 376 mg (0.69 mmol, 89% d. Th.).

Schmp. : amorph.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> : +28.0 (*c* = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3475 (m), 1712 (m), 1459 (s), 1377 (s), 1237 (w), 1216 (w), 1054 (w).

UV :  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 225 nm (0.4), 274 nm (0.13).

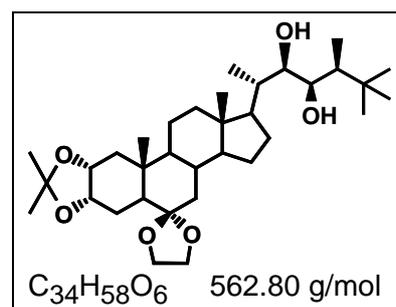
EI-MS : *m/z* (%) = 546 (M<sup>+</sup>; 13), 531 (46), 335 (100), 239 (18), 99 (20).

HR-MS : *m/z* = 546.3906 (berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>6</sub> 546.3893), 531.3673 (berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>51</sub>O<sub>6</sub> 531.3661), 335.2222 (berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>O<sub>4</sub> 335.2222).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*,23*R*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-6,6-ethyldioxy-22,23-dihydroxy-24,25-dimethyl-5 $\alpha$ -cholestan (56)**

100 mg (0.17 mmol) **55** werden ebenso wie **18** in abs. *n*-Hexan/Cyclohexan gelöst und mit 0.87 ml Me<sub>3</sub>Al (2 M in *n*-Hexan, 1.73 mmol, 10 Äquiv.) und 0.22 ml *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 0.35 mmol, 2 Äquiv.) umgesetzt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 95:5; *R<sub>f</sub>* = 0.42). Nach entsprechender Aufarbeitung wird **56** mit einem Gradienten von Hexan:EtOAc = 80:20 bis 50:50 chromatographiert.



Ausbeute : 32 mg (0.06 mmol, 34% bezogen auf umgesetzten Ausgangsstoff **55**).

Schmp. : amorph.

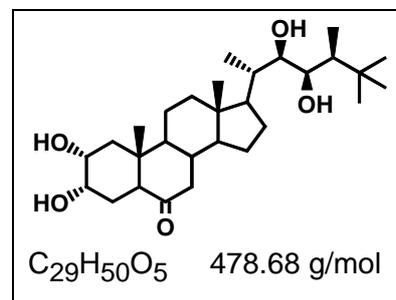
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup> : +26.6 (*c* = 1.2, MeOH).

EI-MS : *m/z* (%) = 562 (M<sup>+</sup>; 5), 547 (23), 417 (13), 359 (32), 351 (100), 239 (15), 99 (26), 57 (34).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 25-Methylcastasteron, (22*R*,23*R*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24,25-dimethyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (57)

22.5 mg (0.04 mmol) **56**, gelöst in 2 ml AcOH:H<sub>2</sub>O = 80:20, werden für 1 h auf 50°C am Rückfluß erwärmt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10; *R<sub>f</sub>* = 0.27). Nach der Neutralisation mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> wird wie für **17** beschrieben aufgearbeitet und chromatographiert (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 100:0 bis 90:10).



Ausbeute : 17 mg (0.036 mmol, 90% d. Th.).

Schmp. : 247-248°C (aus MeOH); Lit. [228] 251-253°C (aus MeOH).

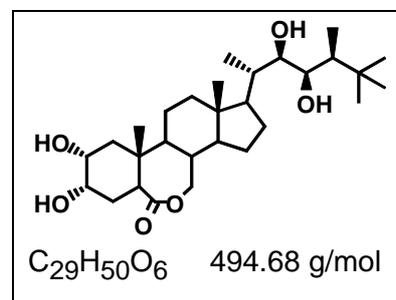
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>27</sup> : +15.8 (*c* = 1.0, MeOH).

EI-MS : *m/z* (%) = 479 ([M+H]<sup>+</sup>; 1), 462 (3), 350 (100), 345 (52), 327 (60), 287 (22), 263 (18); 245 (12), 173 (19), 95 (32), 85 (28), 57 (40).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

### 25-Methylbrassinolid, (22*R*,23*R*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,22,23-Tetrahydroxy-24,25-di-methyl-B-homo-6a-oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (58)

Die Darstellung der Trifluorperessigsäure mit anschließender Baeyer-Villiger-Oxidation erfolgt für **57** in Analogie der Umsetzung von **17**. Dazu werden 10 mg (0.02 mmol) **57** in 1 ml CHCl<sub>3</sub> gelöst und in eine bei 0°C gerührte Lösung von Trifluorperessigsäure getropft. Nach Erwärmen auf RT wird für weitere 2 h gerührt (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 90:10; *R<sub>f</sub>* = 0.20) und nach beendeter Reaktion analog **17** aufgearbeitet.



Ausbeute : 8 mg (0.015 mmol, 75% d. Th.).

Schmp. : 268-270°C (aus MeOH); Lit. [228] 274-276°C (aus MeOH).

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> : + 65.7 (*c* = 1.0, MeOH).

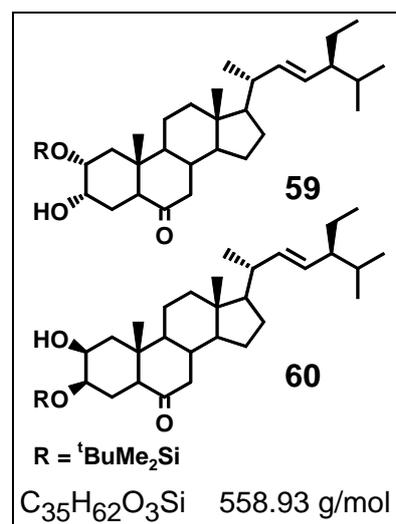
EI-MS : *m/z* (%) = 495 ([M+H]<sup>+</sup>; 1), 476 (7), 380 (39), 379 (100), 361(59), 343 (45), 177 (35), 173 (22), 131 (23), 115 (27), 100 (53), 57 (62).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

## 4.6. Synthese von TS303 und seinen Isomeren

**(22E,24S)-2 $\alpha$ -(tert.-Butyldimethyl)silyloxy-3 $\alpha$ -hydroxy-24-ethyl-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on (59)****(22E,24S)-2 $\alpha$ -Hydroxy-3 $\alpha$ -(tert.-butyldimethyl)silyloxy-24-ethyl-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on (60)**

2.2 g (5.0 mmol) werden in 100 ml Pyridin gelöst. Zu dieser Lösung werden 754 mg (10.0 mmol, 2 Äquiv.) *tert.*-Butyldimethylchlorsilan und 122 mg (1.0 mmol, 0.2 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin addiert. Danach wird für 24 h bei 60°C gerührt, nochmals mit 566 mg (7.5 mmol, 1.5 Äquiv.) *tert.*-Butyldimethylchlorsilan versetzt und weitere 12 h bei 60°C gerührt (DC Hexan:EtOAc = 0:50; **59**  $R_f$  = 0.36, **60**  $R_f$  = 0.46). Durch Einengen und Chromatographieren werden die Monosilylether **59** und **60** erhalten (Hexan:EtOAc = 100:0 bis 90:10).



**59** : Ausbeute: 2.21 g (3.96 mmol, 79% d. Th.)

EI-MS :  $m/z$  (%) = 543 ([M-15]<sup>+</sup>; 1); 501 ([M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>;100), 489 (12), 409 (8), 83 (28).

Schmp. : 180-181°C (aus EtOAc).  $[\alpha]_D^{26}$  :-25.6 ( $c$  = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3563 (m), 3492 (m), 1704 (s), 1462 (s), 1376 (s), 1253 (s), 1158 (s), 1081 (m), 836 (s), 777 (s).

**60** : Ausbeute: 302 mg (0.54 mmol, 11% d. Th.).

EI-MS :  $m/z$  (%) = 543 ([M-15]<sup>+</sup>; 3); 501 ([M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>;100), 483 (4), 409 (6), 83 (24).

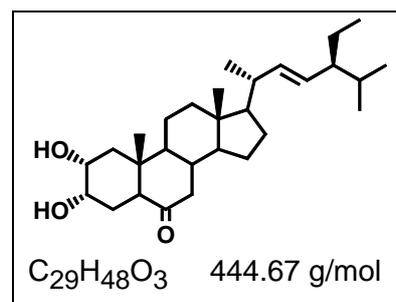
Schmp. : 151-154°C (aus EtOAc).  $[\alpha]_D^{25}$  :-28.5 ( $c$  = 1.0, MeOH).

IR (Nujol) :  $\nu$  = 3549 (m), 1691 (s), 1461 (s), 1252 (s), 1075 (s), 835 (s), 778 (s).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22E,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-24-ethyl-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on (6)**

1.7 g (3.56 mmol) **59** werden mit 600 ml Acetonitril und 200 ml 5% HF versetzt und für 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Da der Umsatz nach dieser Zeit nicht vollständig war, wurde der Ansatz für weitere 24 h bei 60°C gerührt. Danach wurde eingengt und diastereomerenreines **6** durch Umkristallisieren aus Ethanol gewonnen.



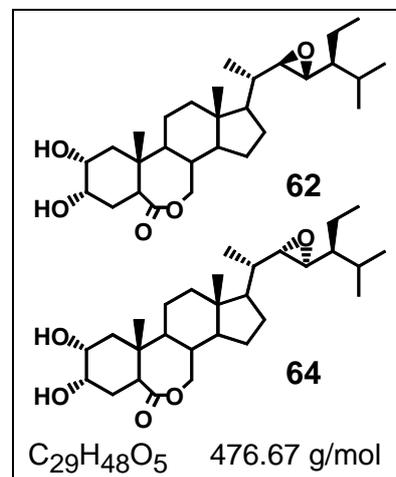
Ausbeute : 1.47 g (3.31 mmol, 93% d. Th.).

Analytische Daten vgl. **6** unter 4.2.

**(22R,23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-22,23-epoxy-24-ethyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (61) und das (5 $\alpha$ -oxa)-Isolacton 62;**

**(22S,23S,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-22,23-epoxy-24-ethyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (63) und das (5 $\alpha$ -oxa)-Isolacton 64**

500 mg (1.12 mmol) **6** in 60 ml CHCl<sub>3</sub> werden nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift für die Baeyer-Villiger-Oxidation (vgl. **18**) mit 1.25 ml 30%-iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung und 7.65 ml Trifluoressigsäureanhydrid für 2 h gerührt. Danach wird analog **18** aufgearbeitet (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 95:5; *R<sub>f</sub>* = 0.31). Das Chromatographieren mit einem Gradienten von CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 100:0 bis 98:2 liefert das Produktgemisch aus **62**, **61**, **64** und **63** im Verhältnis von 1:3.8:1.2:5.4 (bestimmt nach Fläche in der HPLC). Die Trennung der Epimeren erfolgt durch HPLC.



Ausbeute : 426 mg Gemisch (0.89 mmol, 79% d. Th.).

Analytische HPLC: LiCrospher 100 RP 18, MeCN:H<sub>2</sub>O = 55:45, *R<sub>f</sub>* = **62**: 9.22 min, **61**: 10.25 min, **64**: 10.71 min, **63**: 11.72 min; YMC ODS, MeCN:H<sub>2</sub>O = 75:25, *R<sub>f</sub>* = **62**: 9.28 min, **61**: 9.98 min, **64**: 10.34 min, **63**: 10.96 min.

Präparative HPLC: LiCrospher 100 RP 18, 250x10 mm MeCN:H<sub>2</sub>O = 55:45; YMC ODS, 250x20, MeCN:H<sub>2</sub>O = 70:30.

**61** : Schmp.: 172-175°C (aus CHCl<sub>3</sub>).    [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +47.5 (*c* = 1.0, MeOH).  
 IR (Nujol) :  $\nu$  = 3392 (w), 2954 (s), 2851 (s), 1718 (m), 1458 (s), 1378 (s), 721 (m).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 225 nm (0.4), 280nm (0.08).  
 EI-MS : *m/z* (%) = 476 (M<sup>+</sup>; 5); 447 (6), 391 (100), 347 (28), 319 (17), 189 (18).  
 HR-MS : *m/z* = 476.3482 (berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> 476.3502), 391.2488 (berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub> 391.2484), 319.1911 (berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub> 319.1904).

**62** : Schmp.: 85-87°C (aus CHCl<sub>3</sub>).    [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>26</sup>: +33.7 (*c* = 1.1, MeOH).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 220 nm (0.75), 283 (0.1).  
 EI-MS : *m/z* (%) = 476 (M<sup>+</sup>; 3); 447 (5), 391 (100), 347 (22), 329 (18), 319 (17).  
 HR-MS : *m/z* = 476.3495 (berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> 476.3502), 447.3122 (berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>43</sub>O<sub>5</sub> 447.3110), 391.2505 (berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub> 391.2484).

**63** : Schmp.: 217-219°C (aus CHCl<sub>3</sub>).    [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +13.4 (*c* = 1.1 MeOH).  
 IR (Nujol) :  $\nu$  = 3394 (s), 1728 (s), 1463 (s), 1378 (m), 1182 (m) 1061 (m), 1025 (m).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 220 nm (0.32), 283 (0.03).  
 EI-MS : *m/z* (%) = 476 (M<sup>+</sup>; 4); 447 (6), 391 (100), 347 (27), 319 (14), 189 (18).  
 HR-MS : *m/z* = 476.3519 (berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> 476.3502), 391.2473 (berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub> 391.2484), 319.1922 (berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub> 319.1904).

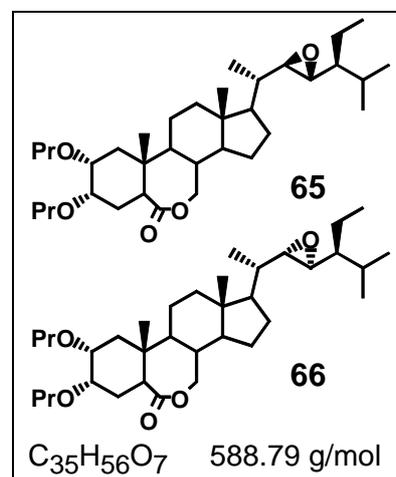
- 64** : Schmp.: 187-190°C (aus CHCl<sub>3</sub>).  $[\alpha]_D^{25}$ : +19.1 (*c* = 1.0, MeOH).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 220 nm (1.6), 282 (0.35).  
 EI-MS : *m/z* (%) = 476 (M<sup>+</sup>; 5); 447 (7), 391 (100), 347 (18), 319 (22).  
 HR-MS : *m/z* = 476.3501 (berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> 476.3502), 391.2491 (berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub> 391.2484), 319.1936 (berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub> 319.1904).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

**(22*R*,23*R*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dipropionyloxy-22,23-epoxy-24-ethyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (65);**

**(22*S*,23*S*,24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dipropionyloxy-22,23-epoxy-24-ethyl-B-homo-6 $\alpha$ -oxa-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (66)**

50 mg (0.1 mmol) **65** bzw. **66** werden in 2 ml abs. Pyridin gelöst und mit 2 ml abs. Propionsäureanhydrid bei RT über Nacht gerührt. (DC CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 95:5; *R<sub>f</sub>* = 0.80; Hexan:EtOAc = 60:40; *R<sub>f</sub>* = 0.57). Danach wird mit Toluol versetzt, einrotiert und an Kieselgel chromatographiert (Hexan:EtOAc = 95:5 bis 70:30).



- 65** : Ausbeute: 57 mg ( 0.097 mmol, 97% d. Th.).  
 Schmp. : 141-144°C (aus CHCl<sub>3</sub>).  
 $[\alpha]_D^{24}$  : +16.3 (*c* = 1.0, MeOH).  
 IR (Nujol) :  $\nu$  = 3418 (w), 2359 (w), 1731 (s), 1716 (s), 1463 (s), 1376 (s), 1185 (m), 906 (m), 877 (m).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 205 nm (1.7), 248 nm (0.5), 282 (0.8).  
 EI-MS : *m/z* (%) = 588 (M<sup>+</sup>; 6); 559 (6), 503 (100), 459 (17), 431 (11), 311 (18).  
 HR-MS : *m/z* = 588.4091 (berechnet für C<sub>35</sub>H<sub>56</sub>O<sub>7</sub> 588.4026), 559.3645 (berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>51</sub>O<sub>7</sub> 559.3635), 503.3045 (berechnet für C<sub>39</sub>H<sub>43</sub>O<sub>7</sub> 503.3009).

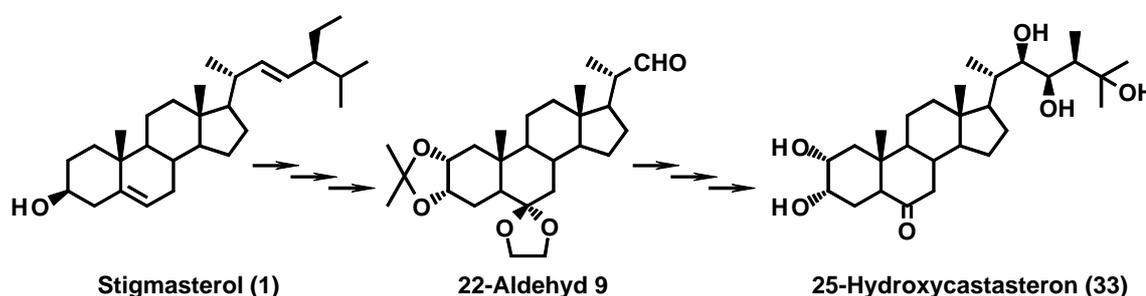
- 66** : Ausbeute: 56 mg ( 0.95 mmol, 95% d. Th.).  
 Schmp. : 139-142°C (aus CHCl<sub>3</sub>).  $[\alpha]_D^{25}$ : +5.8 (*c* = 1.0, MeOH).  
 IR (Nujol) :  $\nu$  = 3387 (w), 1714 (s), 1558 (s), 1377 (s), 721 (m).  
 UV :  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 205 nm (2.5), 249 nm (0.8), 282 (1.12).  
 EI-MS : *m/z* (%) = 588 (M<sup>+</sup>; 4); 559 (5), 503 (100), 459 (18), 431 (12), 311 (21).  
 HR-MS : *m/z* = 588.4021 (berechnet für C<sub>35</sub>H<sub>56</sub>O<sub>7</sub> 588.4026), 559.3712 (berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>51</sub>O<sub>7</sub> 559.3635), 503.2978 (berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>O<sub>7</sub> 503.3009).

<sup>1</sup>H-NMR/<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : vgl. NMR-Tabellen im Anhang.

## 5. Zusammenfassung

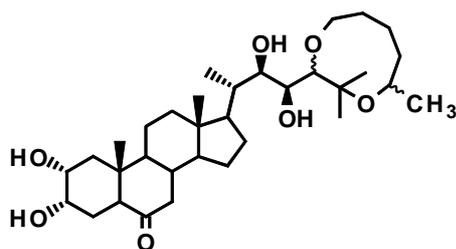
Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) und weiteren bisher nicht bekannten Brassinosteroiden bzw. Brassinosteroid-Analoga.

Ausgehend von Stigmasterol (**1**), wurde in einem ersten Teil die über acht Stufen verlaufende Synthese des 22-Aldehydes **9** mit präformierten Brassinosteroid-Strukturmerkmalen im A/B-Ring nach bekanntem Verfahren durchgeführt. Von diesem Steroid aus erfolgt der Seitenkettenaufbau zum 25-Hydroxycastasteron (**33**) mit unterschiedlichen Strategien.

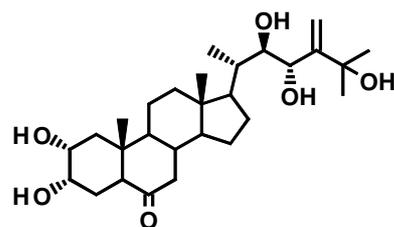


In einem zweiten Teil wird der Seitenkettenaufbau der Brassinosteroide Castasteron (**17**) und Brassinolid (**18**) nach einem modifiziertem Verfahren beschrieben. Diese Brassinosteroide werden im folgenden als Referenzverbindungen und Ausgangsstoffe für weitere Synthesen benötigt. Der Seitenkettenaufbau erfolgte durch die Kopplung von lithiiertem terminalen Alkin [3-Methyl-but-1-in (**MB**)] mit dem 22-Aldehyd **9** und anschließende Funktionalisierung der Seitenkette. Hierzu wurde durch Oxidation des entstandenen Gemisches aus (22*R*)- und (22*S*)-Propargylalkohol, selektive Reduktion des 22-Ketons, partielle *cis*-Hydrierung der 23(24)-Dreifachbindung, stereoselektive Epoxidation der entstehenden 23(24)-Doppelbindung und alkylierende Epoxidöffnung die gewünschte Seitenkette mit (22*R*,23*R*,24*S*)-22,23-Dihydroxy-24-methyl-Struktur synthetisiert. Nach Abspalten der Schutzgruppen im A/B-Ringsystem wurde Castasteron (**17**) und aus diesem durch Baeyer-Villiger-Oxidation Brassinolid (**18**) erhalten.

Die Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) durch Seitenkettenaufbau sollte analog der für Castasteron (**17**) vorgestellten Variante erfolgen. Für die Einführung der 25-Hydroxygruppe wird jedoch das entsprechend modifizierte Seitenkettensyntheton 3-(Tetrahydropyran-2'-yloxy)-3-methyl-but-1-in (**MBOT**) eingesetzt. Durch die Verwendung des THP-Ethers wurde bei der alkylierenden Epoxidöffnung mit Trimethylaluminium und *n*-Butyllithium ein neues Castasteron-Derivat **26** mit einem 24(25)-anneliertem Dioxonanring erhalten. Von besonderem Interesse ist, daß nur eins der beiden C-2' Isomeren, und zwar Verbindung **24a**, die geeignete sterische Anordnung für diese Reaktion aufweist. Diese besteht wahrscheinlich in einer unterschiedlichen räumlichen Fixierung des Tetrahydropyranrings über eine intramolekulare Wasserstoffbrücke.



Castasteron-Dioxonan-Derivat 26



25-Hydroxy-23-epidolichosteron (40)

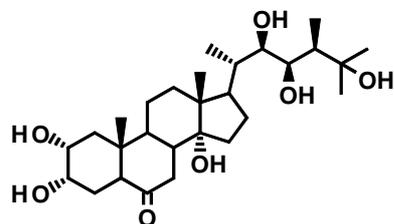
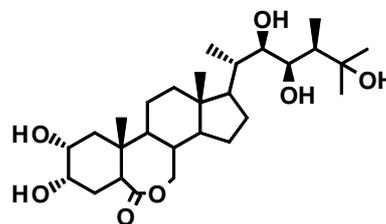
In einer weiteren Reaktionsfolge wurde an Stelle der THP-Schutzgruppe die Hydroxyfunktion des Seitenkettensynthons als Benzylether geschützt. Nach der Verknüpfung von Aldehyd **9** und Synthon 3-Benzyl-3-methyl-but-1-in (**MBOB**) und analoger Seitenkettenfunktionalisierung konnte bei der alkylierenden Epoxidöffnung die gewünschte Seitenkettenstruktur und nach Abspaltung der Schutzgruppen im A/B-Ringsystem erstmals 25-Hydroxycastasteron (**33**) synthetisiert werden.

Weiterhin wurde für die Synthese von 25-Hydroxycastasteron (**33**) folgende neue Strategie des Seitenkettenaufbaus untersucht: Ausgehend vom Alkin **20** mit Dreifachbindung in 23(24)-Position wurde durch Propargylumlagerung das Allen **34** mit 23,24-Dienstruktur synthetisiert. Zum Aufbau der gewünschten Seitenkette mit 22,23-Diol-Struktur und zusätzlicher 25-Hydroxyfunktion, wurden nachfolgend die Positionen 23, 24 und 25 durch Bisepoxidation und Hydrolyse zum  $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxy-24-keton **36** funktionalisiert. Nach Olefinierung der 24-Carbonylfunktion mit dem Tebbe-Reagenz (oder nach Silylierung der 23-Position durch Wittig-Reaktion) lieferte diese Methode 25-Hydroxy-23-epidolichosteron (**40**) als ein weiteres neuartiges Brassinosteroid. Bei der anschließenden Hydrierung der 24(28)-Methylengruppe wurde daher 25-Hydroxy-23-epicastasteron (**42a**) und 25-Hydroxy-23,24-diepicastasteron (**42b**) mit (22*R*,23*S*)-Konfiguration gewonnen.

In einer weiteren Synthese wurde 25-Hydroxycastasteron (**33**) aus Castasteron (**17**) durch regioselektive Oxyfunktionalisierung mit Methyl(trifluormethyl)dioxiran (**TFD**) gewonnen. Dazu wurde Castasterontetraacetat (**43**) mit **TFD** umgesetzt, wobei neben 25-Hydroxycastasterontetraacetat (**44**) auch das bisher nicht bekannte 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasterontetraacetat (**45**) entstand. Nach Verseifung der Acetylgruppen lieferte diese Synthese daher nicht nur 25-Hydroxycastasteron (**33**), sondern in Abhängigkeit von der eingesetzten **TFD**-Menge auch 14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasteron (**46**). Nach dieser Methode wurde auch das bereits bekannte 25-Hydroxybrassinolid (**50**) aus Brassinolid (**18**) für weitere biologische Untersuchungen synthetisiert. Dabei konnte auch das bisher nicht ausreichend beschriebene Isolactontetraacetat (**48**) vollständig charakterisiert werden.

Weiterhin wurden in dieser Arbeit die bekannten Brassinosteroide 25-Methylcastasteron (**57**) und 25-Methylbrassinolid (**58**) erstmals über Seitenkettenaufbau in Analogie zur durchgeführten Synthese von Brassinolid (**18**) dargestellt. Durch den Vergleich der Intermediate dieser Reaktionsfolge mit den in der 25-Position unsubstituierten bzw.

hydroxylierten und geschützten Vertretern wurde beobachtet, daß die zusätzliche 25-Methylgruppe die Reaktivität bei der alkylierenden Epoxidöffnung stärker herabsetzt als die Substitution der 25-Position durch einen Benzylether.

14 $\alpha$ ,25-Dihydroxycastasteron (46)

25-Hydroxybrassinolid (50)

Der Reis-Lamina-Inklinationstest der Zielverbindungen und weiterer Brassinosteroide zeigte, daß 25-Hydroxycastasteron (**33**) und 25-Hydroxybrassinolid (**50**) phytohormonal stark wirksame Brassinosteroide sind, obwohl ihre Bioaktivität die von Castasteron (**17**) bzw. Brassinolid (**18**) nicht erreicht. Damit führt die zusätzliche 25-Hydroxylierung im Reis-Lamina-Inklinationstest weder zu einer Erhöhung noch zu einem drastischen Abfall der Bioaktivität. Die Klärung der Fragestellung, ob die 25-Hydroxylierung den finalen Aktivierungs- oder einen ersten Deaktivierungsschritt darstellt, muß weiteren biologischen Arbeiten vorbehalten bleiben.

Für biologische Prüfungen von Interesse ist das in einem weiteren Teil beschriebene Brassinosteroid-Analogon TS303 **65**. Hierbei wurden auch die bisher nicht beschriebenen isomeren Verbindungen **59-64** und **66** abgetrennt und analysiert. Nach der Synthese und Reinigung wurde die Bioaktivität dieser strukturell ähnlichen 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-Lactone **61**, **63**, **65** und **66** (22,23-Epoxy-Isomere mit und ohne veresterter Diolfunktion im A-Ring) im RLI- und im *Ara*MH-Test untersucht. Dadurch konnten diese beiden Biotestsysteme erstmals miteinander verglichen werden. Eine Bioaktivität der Epoxide **61** und **63** ist in beiden Testsystemen erst im mikromolaren Bereich meßbar. Deutlich erkennbar ist auch der Aktivitätsverlust, wenn die Konfiguration vom (22*R*,23*R*)- **61** zum (22*S*,23*S*)-Epoxid **63** wechselt. Die Epoxide **65** und **66** mit veresterter Diolfunktion im A-Ring sind weder im RLI- noch im *Ara*MH-Test bioaktiv. Die beste Übereinstimmung wurde zwischen Reis und *Arabidopsis*-Wildtyp beobachtet. Bei den Mutanten ist die biologische Aktivität stärker ausgeprägt, da diese durch den Brassinosteroid-Mangel wesentlich sensibler reagieren.

Zur Stofftrennung wurde "flash"-Säulenchromatographie an Kieselgel und präparative HPLC eingesetzt, aber auch GC-MS und LC-MS wurden angewendet. Die Strukturen der neu dargestellten Verbindungen wurden insbesondere mit Massenspektrometrie und <sup>1</sup>H-/<sup>13</sup>C-NMR unter Anwendung von ein- und zweidimensionalen Techniken aufgeklärt und durch weitere Daten aus IR- und UV-Spektroskopie charakterisiert.

Entsprechend der Zielstellung wurden mit diesen Arbeiten die stofflichen Voraussetzungen sowohl für weiterführende biologische und molekularbiologische Untersuchungen als auch für anwendungsorientierte Experimente geschaffen.

## 6. Literaturverzeichnis

- [1] J. W. Mitchell, N. B. Mandava, J. F. Worley, J. R. Plimmer und M. V. Smith. Brassins - a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature*, 1970, **225**, 1065-1066.
- [2] J. W. Mitchell und M. R. Whitehead. Responses of vegetative parts of plant following application of extract of pollen from *Zea mays*. *Botanical Gazette*, 1941, **102**, 70-790.
- [3] J. W. Mitchell, D. P. Skraggs und W. P. Anderson. Plant growth stimulating hormones in immature bean seeds. *Science*, 1951, **114**, 159-161.
- [4] S. Marumo, H. Hattori, Y. Nanoyama und K. Munakata. The presence of novel plant growth regulators in leaves of *Distillium racemoseum* Sieb et Zucc.. *Agric. Biol. Chem.*, 1968, **32**, 528-529.
- [5] T. Yokota. The history of brassinosteroids: Discovery to isolation of biosynthesis and signal transduction mutants. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "*Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones*", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 1-20.
- [6] J. W. Mitchell und L. E. Gregory. Enhancement of overall growth, a new response to brassins. *Nature New Biol.*, 1972, **239**, 253-254.
- [7] M. D. Grove, G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. B. Mandava, J. F. Worley, J. C. Warthen Jr., G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson und J. C. Cook Jr.. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, 1979, **281**, 216-217.
- [8] G. Adam und V. Marquardt. Brassinosteroids. *Phytochemistry*, 1986, **25**, 1787-1799.
- [9] G. Adam und U. Petzold. Brassinosteroide - eine neue Phytohormon-Gruppe? *Naturwissenschaften*, 1994, **81**, 210-217.
- [10] N. B. Mandava. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1988, **39**, 23-52.
- [11] V. Marquardt und G. Adam. Recent advances in brassinosteroid research. In: W. Ebing (ed.) "*Chemistry of Plant Protection 7*", Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1991, pp. 104-139.
- [12] W. J. Meudt. Chemical and biological aspects of brassinolide. In: G. Fuller "*Ecology and Metabolism of Plant Lipids*", ACS Symposium Ser. 325, 1987, pp. 53-75.
- [13] C. D. Schlaghauser und R. N. Artica. The uptake and metabolism of brassinosteroid by tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants. *J. Plant Physiol.*, 1991, **138**, 191-194.
- [14] J. Sasse. Physiological actions of brassinosteroids. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "*Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones*", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 137-162.
- [15] H. Suzuki, S.-K. Kim, N. Takahashi und T. Yokota. Metabolism of castasterone and brassinolide in mung bean explant. *Phytochemistry*, 1993, **33**, 1361-1367.
- [16] S.-K. Kim. Natural occurrence of brassinosteroids. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "*Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Application*", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 26-35.
- [17] A. Sakurai und S. Fujioka. The current status of physiology and biochemistry of brassinosteroids, A review. *Plant Growth Regul.*, 1993, **13**, 147-159.
- [18] S. Takatsuto. Brassinosteroids: distribution in plants, bioassays and microanalysis by gas chromatography - mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 1994, **658**, 3-15.
- [19] [www.iac.br/~mzullo/brasinosteroids](http://www.iac.br/~mzullo/brasinosteroids)
- [20] B. Schneider, J. Schmidt und G. Adam. Brassinosteroids. In: L. Zechmeister (ed.)

- "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products", Band 78, Springer-Verlag Wien New York, 1999, im Druck.
- [21] V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii und A. E. de Groot. Brassinosteroids - A New Class of Plant Hormones. *Academic Press*, San Diego, 1999, 456 Seiten.
- [22] S. Fujioka. Natural occurrence of brassinosteroids in the plant kingdom. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "*Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones*", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 21-46.
- [23] S. Takatsuto und T. Yokota. Biochemical analysis of natural brassinosteroids. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "*Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones*", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 47-68.
- [24] K. Hamada. Brassinolide: Some effects for crop cultivations. *FFCT Book Ser., Plant Growth Regul. Agric.*, 1986, **34**, 188-197.
- [25] R. K. Sairam. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regul.*, 1994, **14**, 173-181.
- [26] K. Hirai, S. Fujii und Y. Kamuro. *Abstr. Ann. Meeting. Chem. Regul. Plants (Tokyo)*, 1984, pp. 36-42.
- [27] N. B. Mandava, J. M. Sasse und J. H. Yopp. Brassinolide, a growth-promoting lactone. II. Activity in selected gibberellin and cytokinin bioassays. *Physiol. Plant.*, 1981, **53**, 453-461.
- [28] S. Takatsuto. Microanalysis of naturally occurring brassinosteroids. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "*Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Application*", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 107-121.
- [29] J. H. Yopp, N. B. Mandava und J. M. Sasse. Brassinolide, a growth-promoting lactone. Activity in selected auxin bioassays. *Physiol. Plant.*, 1981, **53**, 445-452.
- [30] S. D. Clouse und D. Zurek. Molecular analysis of brassinolide action in plant growth and development. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "*Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Applications*", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 122-140.
- [31] S. D. Clouse, D. Zurek, T. C. McMorris und M. Baker. Effect of brassinolide of gen expression in elongation soybean epicotyls. *Plant Physiol.*, 1992, **100**, 1377-83.
- [32] J.-S. Eun, S. Kuraishi und N. Sakurai. Changes in levels of auxin and abscisic acid and the evolution of ethylene in squash hypocotyles after treatment with brassinolide. *Plant Cell Physiol.*, 1989, **30**, 807-810.
- [33] (a) D. T. Krizek und N. B. Mandava. Influence of spectral quality on the growth response of intact bean plants to brassinosteroid, a growth-promoting steroidal lactone. I. Stem elongation and morphogenesis. *Physiol. Plant.*, 1983, **57**, 317-323. (b) D. T. Krizek und N. B. Mandava. II. Chlorophyll content and partitioning of assimilate. *Physiol. Plant.*, 1983, **57**, 324-329.
- [34] W. J. Meudt. Investigations on the mechanism of the brassinosteroid response. VI. Effect of brassinolide on gravitropism of bean hypocotyls. *Plant Physiol.*, 1987, **83**, 195-198.
- [35] J. M. Sasse. Effects of brassinolide and other natural plant growth regulators on the morphology of pea stem tissue. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1987, **14**, 30-39.
- [36] J. M. Sasse, *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1989, **16**, 82-89.
- [37] J. M. Sasse. Brassinolide-induced elongation and auxin. *Physiol. Plant.*, 1990, **80**, 401-408.
- [38] J. M. Sasse, *Abstr. 200th ACS National Meeting - Symposium on Brassinosteroids* Washington 26-31 August, Abstr. 119.
- [39] T. Yokota, Y. Ogino, H. Suzuki, N. Takahashi, H. Saimoto, S. Fujioka und A. Sakurai. Metabolism and biosynthesis of brassinosteroids. In: H. G. Cutler, T.

- Yokota und, G. Adam (eds.) "Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Application", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 86-96.
- [40] P. Allevi, M. Anastasia, R. Cerana und P. Ciuffreda. 24-Epibrassinolide uptake growing maize root segments evaluated by multiple-selected ion monitoring. *Phytochemistry*, 1988, **27**, 1309-1314.
- [41] (a) T. Yokota, K. Higuchi, Y. Kosaka und N. Takahashi. Transport and metabolism of brassinosteroids in rice. In: C. M. Karssen, L.C. van Loon und D. Vreugdenhil (eds.) "Progress in Plant Growth Regulation", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht Boston London, 1992, pp. 298-305. (b) T. Yokota, K. Higuchi, Y. Kosaka und N. Takahashi. Transport and metabolism of brassinosteroids in rice. *Curr. Plant Sci. Biotechnol. Agric.*, 1992, **13**, 298-305.
- [42] M. Sasse. Brassinosteroids- induced elongation. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Applications", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 255-264.
- [43] A. Kauschmann, A. Jessop, C. Koncz, M. Szekeres, L. Willmitzer und T. Altmann. Genetic evidence for an essential role of brassinosteroids in plant development. *Plant J.*, 1996, **9**, 701-713.
- [44] M. Szekeres, K. Nemeth, Z. Koncz-Kalman, J. Mathur, A. Kauschmann, T. Altmann, G. P. Redei, F. Nagy, J. Schell und C. Koncz. Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in arabidopsis. *Cell*, 1996, **85**, 171-182.
- [45] A. Kauschmann, G. Adam, D. Lichtlau, C. Mussig, J. Schmidt, B. Voigt, L. Willmitzer und T. Altmann. Molecular/genetic analysis of brassinosteroid synthesis and action. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1997, **24**, 95-96.
- [46] H. Abe, K. Nakamura, T. Tadashi, M. Uchiyama, S. Takatsuto und N. Ikekawa. Endogenous brassinosteroids of the rice plant: Castasterone and dolichosterone. *Agric. Biol. Chem.*, 1984, **48**, 1103-1104.
- [47] H. Abe, S. Takatsuto, M. Nakayama und T. Yokota. 28-homotyphasterol, a new natural brassinosteroid from rice (*Oryza sativa* L.) Bran. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1995, **59**, 176-178.
- [48] K.-H. Park, J.-D. Park, K.-H. Hyun, M. Nakayama und T. Yokota. Brassinosteroids and monoglycerides with brassinosteroid-like activity in immature seeds of *Oryza sativa* and *Perilla frutescens* and in cultered cells of *Nicotiana tabacum*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1994, **58**, 2241-2243.
- [49] J. Schmidt, B. Spengler, T. Yokota, M. Nakayama, S. Takatsuto, B. Voigt und G. Adam. Secasterone, the first naturally occurring 2,3-epoxybrassinosteroid from *Secale cereale*. *Phytochemistry*, 1995, **38**, 1095-1097.
- [50] Y. Suzuki, I. Yamaguchi, T. Yokota und N. Takahashi. Identification of castasterone, typhasterol and teasterone from the pollen of *Zea mays*. *Agric. Biol. Chem.*, 1986, **50**, 3133-3138.
- [51] K. Gamoh, N. Okamoto, S. Takatsuto und I. Tejima. Determination of traces of natural brassinosteroids as dansylaminophenylboronates by liquid chromatography with fluorimetric detection. *Anal. Chim. Acta*, 1990, **228**, 101-105.
- [52] K.-H. Park, S.-K. Kim und T. Yokota. Identification of brassinosteroids inimmature seeds of *Zea mays* by GC-MS analysis. *Han'guk Nonghwa Hakhoechi*, 1995, **38**, 179-183.
- [53] T. Morishita, H. Abe, M. Uchiyama, S. Marumo, S. Takatsuto und N. Ikekawa. Evidence for plant growth promoting brassinosteroids in leaves of *thea sinensis*. *Phytochemistry*, 1983, **22**, 1051-1053.
- [54] H. Abe, T. Morishita, M. Uchiyama, S. Takatsuto und N. Ikekawa. A new brassinolide-related steroid in the leaves of *Thea sinensis*. *Agric. Biol. Chem.*, 1984, **48**, 2171-2172.

- [55] J. Schmidt, C. Kuhnt und G. Adam. Brassinosteroids and sterols from seeds of *Beta vulgaris*. *Phytochemistry*, 1994, **36**, 175-177.
- [56] S. Takatsuto, T. Yokota, K. Omote, K. Gamoh und N. Takahashi. Identification of brassinolide, castasterone and norcastasterone (brassinone) in sunflower (*Helianthus annuus* L.) pollen. *Agric. Biol. Chem.*, 1989, **53**, 2177-2180.
- [57] S.-K. Kim, H. Abe, C. H. A. Little und R. P. Pharis. Identification of two brassinosteroids from the cambial region of scots pine (*Pinus silverstris*) by gas chromatography - mass spectrometry, after detection. Using a dwarf rice lamina inclination bioassay. *Plant Physiol.*, 1990, **94**, 1709-1713.
- [58] T. Yokota, M. Arima, N. Takahashi, S. Takatsuto, N. Ikekawa und T. Takematsu. 2-Deoxycastasterone, a new brassinolide-related bioactive steroid from *Pinus* pollen. *Agric. Biol. Chem.*, 1983, **47**, 2419-2420.
- [59] S. Fujioka, Y.-H. Choi, S. Takatsuto, T. Yokota, J. Li, J. Chory und A. Sakurai. Identification of castasterone, 6-deoxocastasterone, typhasterol and 6-deoxytyphasterol from the shoots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, 1996, **37**, 1201-1203.
- [60] J. Schmidt, T. Altmann und G. Adam. Brassinosteroids from seeds of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 1997, **45**, 1325-1327.
- [61] S. Fujioka, T. Noguchi, T. Yokota, S. Takatsuto und S. Yoshida. Brassinosteroids in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 1998, **48**, 595-599.
- [62] S. Takatsuto, H. Abe und K. Gamoh. Evidence for brassinosteroids in strobilus of *Equisetum arvense* L.. *Agric. Biol. Chem.*, 1990, **54**, 1057-1059.
- [63] T. Yokota und N. Takahashi. Chemistry, physiology and agricultural application of brassinolide and related steroids. In: M. Bopp (ed.) "Proceedings in life sciences: Plant growth substances", 12th international conference, Heidelberg, Aug. 1985, Springer-Verlag NewYork, 1986, pp. 129-138.
- [64] T. Yokota, S. K. Kim, Y. Fukui, N. Takahashi, Y. Takeuchi und T. Takematsu. Brassinosteroids and sterols from a green alga, *Hydrodictyon reticulatum*: Configuration at C-24. *Phytochemistry*, 1987, **26**, 503-506.
- [65] Y.-H. Choi, T. Inoue, S. Fujioka, H. Saimoto und A. Sakurai. Identification of brassinosteroid-like active substances in plant-cell cultures. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1993, **57**, 860-861.
- [66] K.-H. Park, H. Saimoto, S. Nakagawa, A. Sakurai, T. Yokota, N. Takahashi und K. Syono. Occurrence of brassinolide and castasterone in crown gall cells of *Catharanthus roseus*. *Agric. Biol. Chem.*, 1989, **53**, 805-811.
- [67] H. Suzuki, S. Fujioka, S. Takatsuto, T. Yokota, N. Murofushi und A. Sakurai. Biosynthesis of brassinolide from castasterone in cultured cells of *Catharanthus roseus*. *J. Plant Growth Regul.*, 1993, **12**, 101-106.
- [68] H. Suzuki, S. Fujioka, S. Takatsuto, T. Yokota, N. Murofushi und A. Sakurai. Biosynthesis of brassinolide from teasterone via typhasterol and castasterone in cultured cells of *Catharanthus roseus*. *J. Plant Growth Regul.*, 1994, **13**, 21-26.
- [69] N. Ikekawa, S. Takatsuto, T. Kitsuwa, H. Saito, T. Morishita und H. Abe. Analysis of natural brassinosteroids by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 1984, **290**, 289-302.
- [70] Y. Kamuro und S. Takatsuto. Practical application of brassinosteroids in agricultural fields. In: A. Sakurai, T. Yokota, S. Clouse (eds.) "Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 223-242.
- [71] M. Lehmann, H.-M. Vorbrod, G. Adam und J. Koolman. Antiecdysteroid activity of brassinosteroids. *Experientia*, 1988, **44**, 355-356.
- [72] K. Richter und J. Koolmann. Antiecdysteroid effects of brassinosteroids in insects. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Application", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991,

- pp. 265-534.
- [73] H. Rönsch, G. Adam, J. Matschke und G. Schachler. Influence of (22S,23S)-homobrassinolide on rooting capacity and survival of adult norway spruce cuttings. *Tree Physiol.*, 1993, **12**, 71-80.
- [74] Y. Kamuro und S. Takatsuto. Capability for and problems of practical uses of brassinosteroids. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Application", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 292-297.
- [75] W. D. Luo, L. Janzen, R. P. Pharis und T. G. Back. Bioactivity of brassinolide methyl ethers. *Phytochemistry*, 1998, **49**, 637-642.
- [76] Y. Kamuro, S. Takatsuto, T. Noguti, T. Watanabe und H. Fujisawa. Application of long-lasting BRs in combination with other PGRs. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1996, **23**, 27-31.
- [77] S. Takatsuto, Y. Kamuro, T. Watanabe, T. Noguchi und H. Kuriyama. Synthesis and plant growth promoting effects of brassinosteroid compound TS303. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1996, 15-20.
- [78] Y. Kamuro, S. Takatsuto, T. Watanabe, T. Noguchi, H. Kuriyama und H. Suganuma. Practical aspects of brassinosteroid compound [TS303]. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1997, **24**, 111-116.
- [79] S. D. Clouse. Molecular genetic studies confirm the role of brassinosteroids in plant growth and development. *Plant J.*, 1996, **10**, 1-8.
- [80] T. Yokota. The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids. *Trends Plant Sci.*, 1997, **2**, 137-143.
- [81] S. Clouse und J. M. Sasse. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, **49**, 427-451.
- [82] T. Altmann. Recent advances in brassinosteroid molecular genetics. *Curr. Opinion Plant Biol.*, 1998, **1**, 378-383.
- [83] T. Altmann. A tale of dwarfs and drugs: brassinosteroids to the rescue. *Trends Genetics*, 1998, **14**, 490-495.
- [84] S. D. Clouse und K. A. Feldmann. Molecular genetics of brassinosteroid action. In: A. Sakurai, T. Yokota, S. Clouse (eds.) "Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 163-190.
- [85] A. Sakurai. Biosynthesis. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 91-112.
- [86] H. Suzuki, S.-K. Kim, N. Takahashi und T. Yokota. Metabolism of castasterone and brassinolide in mung bean explant. *Phytochemistry*, 1993, **33**, 1361-1367.
- [87] A. Kolbe, B. Schneider, A. Porzel, B. Voigt, G. Krauss und G. Adam. Pregnane-type metabolites of brassinosteroids in cell suspension cultures of *Ornithopus sativus*. *Phytochemistry*, 1994, **36**, 671-673.
- [88] B. Schneider, A. Kolbe, A. Porzel und G. Adam. A novel metabolite of 24-epibrassinolide in cell suspension cultures of *Lycopersicon esculentum*. *Phytochemistry*, 1994, **36**, 319-321.
- [89] T. Hai, B. Schneider und G. Adam. Metabolic conversion of 24-epi-brassinolide into pentahydroxylated brassinosteroid glucosides in tomato cell cultures. *Phytochemistry*, 1995, **40**, 443-448.
- [90] A. Kolbe, B. Schneider, A. Porzel und G. Adam. Acyl-conjugated metabolites of brassinosteroids in cell suspension cultures of *Ornithopus sativus*. *Phytochemistry*, 1995, **38**, 633-636.
- [91] N. Nishikawa, H. Abe, M. Natsume, A. Shida und S. Toyama. Epimerization and conjugation of C-14-labeled epibrassinolide in cucumber seedlings. *J. Plant Physiol.*, 1995, **147**, 294-300.

- [92] H. Suzuki, T. Inoue, S. Fujioka, T. Saito, S. Takatsuto, T. Yokota, N. Murofushi, T. Yanagisawa und A. Sakurai. Conversion of 24-methylcholesterol to 6-oxo-24-methylcholestanol, a putative intermediate of the biosynthesis of brassinosteroids, in cultured cells of *Catharanthus roseus*. *Phytochemistry*, 1995, **40**, 1391-1397.
- [93] T. Hai, B. Schneider, A. Porzel und G. Adam. Metabolism of 24-epicastasterone in cell suspension cultures of *Lycopersicon esculentum*. *Phytochemistry*, 1996, **41**, 197-201.
- [94] A. Kolbe, B. Schneider, A. Porzel und G. Adam. Metabolism of 24-epicastasterone and 24-epibrassinolide in cell suspension cultures of *Ornithopus sativus*. *Phytochemistry*, 1996, **41**, 163-167.
- [95] A. Kolbe, A. Porzel, B. Schneider und G. Adam. Diglycosidic metabolites of 24-epiteasterone in cell suspension cultures of *Lycopersicon esculentum* L.. *Phytochemistry*, 1997, **46**, 1019-1022.
- [96] A. Kolbe, B. Schneider, A. Porzel und G. Adam. Metabolic inversion of the 3-hydroxy function of brassinosteroids. *Phytochemistry*, 1998, **48**, 467-470.
- [97] G. Adam und B. Schneider. Uptake, transport and metabolism. In: A. Sakurai, T. Yokota, S. Clouse (eds.) "Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 113-136.
- [98] S. D. Clouse. Plant hormones: Brassinosteroids in the spotlight. *Current Biol.*, 1996, **6**, 658-661.
- [99] S. D. Clouse. Molecular genetic analysis of brassinosteroid action. *Physiol. Plant.*, 1997, **100**, 702-709.
- [100] S. D. Clouse, M. Langford und T. C. McMorris. A brassinosteroid-intensitive mutant in *Arabidopsis thaliana* exhibits multiple defects in growth and development. *Plant Physiol.*, 1996, **111**, 671-678.
- [101] J. M. Li, P. Nagpal, V. Vitart, T. C. McMorris und J. Chory. A role for brassinosteroids in light-dependent development of *Arabidopsis*. *Science*, 1996, **272**, 398-401.
- [102] J. M. Li und J. Chory. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell*, 1997, **90**, 929-938.
- [103] R. Azpiroz, Y. Wu, J. C. LoCasio und K. A. Feldmann. An Arabidopsis Brassinosteroid-Dependent Mutant is Blocked in Cell Elongation. *The Plant Cell*, 1998, **10**, 219-230.
- [104] U. Klahre, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, T. Yokota, T. Nomura, S. Yoshida und N. H. Chua. The Arabidopsis DIMINUTO/DWARF1 gene encodes a protein involved in steroid synthesis. *Plant Cell*, 1998, **10**, 1677-1690.
- [105] S. Frances und W. F. Thompson. The dark-adaptation response of the de-etiolated pea mutant lip1 is modulated by external signals and endogenous programs. *Plant Physiol.*, 1997, **115**, 23-28.
- [106] T. Nomura, M. Nakayama, J. B. Reid, Y. Takeuchi und T. Yokota. Blockade of brassinosteroid biosynthesis and sensitivity causes dwarfism in garden pea. *Plant Physiol.*, 1997, **113**, 31-37.
- [107] J. Winter, B. Schneider, D. Strack und G. Adam. Role of a cytochrome P450-dependent monooxygenase in the hydroxylation of 24-epibrassinolide. *Phytochemistry*, 1997, **45**, 233-237.
- [108] M. Stoldt, A. Porzel, G. Adam und W. Brandt. Side chain conformation of the growth-promoting phytohormones brassinolide and 24-epibrassinolide. *Magn. Reson. Chem.*, 1997, **35**, 629-626.
- [109] S. Drohsin, A. Porzel, B. Voigt, W. Brandt, Ch. Wagner, K. Merzweiler, G. Adam. Conformational studies of two new brassinosteroid analogues with 22,23-trans diol function. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 1999, 233-238.
- [110] S. Fung und J. B. Siddall. Stereoselective synthesis of brassinolide: growth

- promoting steroidal lactone. *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 6581-6582.
- [111] M. Ishiguro, S. Takatsuto, M. Morisaki und N. Ikekawa. Synthesis of brassinolide, a steroidal lactone with plant-growth promoting activity. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1980, **29**, 962-964.
- [112] M. J. Thompson, N. B. Mandava, J. L. Flippen-Anderson, J. F. Worley, S. R. Dutky, W. E. Robbins und W. Lusby. Synthesis of brassinosteroids: New plant-growth-promoting steroids. *J. Org. Chem., Commun.*, 1979, **44**, 5002-5004.
- [113] V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii und V. N. Litvinovskaya. Synthesis and some practical aspects of brassinosteroids. In: H. G. Cutler, T. Yokota und G. Adam (eds.) "*Brassinosteroids - Chemistry, Bioactivity and Application*", ACS Symposium Ser. 474, Washington, DC, 1991, pp. 43-55.
- [114] S. Takatsuto. The synthesis, structure-activity relationships and microanalysis of brassinosteroids. *Chem. Regul. Plants (Tokyo)*, 1994, **29**, 23-30.
- [115] T. G. Back. Stereoselective synthesis of brassinosteroids. In: Atta-ur-Rahmann (ed.) "*Studies in Natural Products Chemistry*", Vol. 16, Stereoselective Synthesis (Part J), Elsevier, Amsterdam, 1995, **16**, 321-364.
- [116] G. Adam, A. Porzel, J. Schmidt, B. Schneider und B. Voigt. New developments in brassinosteroid research. In: Atta-ur-Rahmann (ed.) "*Studies in Natural Products Chemistry*", Vol. 18, (Part K), Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1996, **18**, pp. 495-549.
- [117] T. G. Back, D. L. Baron, W. D. Luo und S. K. Nakajima. Concise, improved procedure for the synthesis of brassinolide and some novel side-chain analogues. *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 1179-1182.
- [118] N. V. Kovganko und S. K. Ananich. Advances in the Chemical Synthesis of Brassinosteroids. *Chem. Nat. Comp.*, 1997, **33**, 389-416.
- [119] T.C. McMorris. Chemical synthesis of brassinosteroids. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "*Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones*", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 69-90.
- [120] S. Takatsuto und N. Ikekawa. Synthesis of deuterio-labelled brassinosteroids, [26,28-<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]brassinolide, [26,28-<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]castasterone, [26,28-<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]typhasterol, and [26,28-<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]teasterone. *Chem. Pharm. Bull.*, 1986, **34**, 4045-4049.
- [121] A. Kolbe, V. Marquardt und G. Adam. Synthesis of tritium labelled 24-epibrassinolide. *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, 1992, **31**, 801-805.
- [122] A. Sakurai und S. Fujioka. Studies on biosynthesis of brassinosteroids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1997, **61**, 757-762.
- [123] A. Kolbe, B. Schneider, B. Voigt und G. Adam. Labelling of Biogenetic Brassinosteroid Precursors. *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, 1998, **41**, 131-137.
- [124] H. Seto, S. Fujioka, H. Koshino, S. Yoshida, T. Watanabe und S. Takatsuto. A general approach to synthesis of labeled brassinosteroids: Preparation of [25,26,27-H-2(7)]brassinolide with 60% isotopic purity from the parent brassinolide. *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 7525-7528.
- [125] J.-L. Zhu und W. H. Okamura. Synthesis of vitamin D (calciferol). *Chem. Rev.*, 1995, **95**, 1877-1952.
- [126] IUPAC-IUB revised tentative rules for nomenclature of steroids. *Biochemistry*, 1969, **8**, 2227-2242.
- [127] B. Voigt, Ch. Wagner, K. Merzweiler. Röntgenstrukturanalyse von Brassinolid. Cambridge Crystallographic Centre, 1999, Hinterlegungsnummer CCDC 116995.
- [128] S. Asakawa, H. Abe, Y. Kyokawa, S. Nakamura und M. Natsume. Teasterone 3-myristate: a new type of brassinosteroid derivative in *Lilium logiflorum* authers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1994, **58**, 219-220.
- [129] P. G. Griffiths, J. M. Sasse, T. Yokota und D. W. Cameron. 6-Deoxytyphasterol and 3-dehydro-6-deoxoteasterone, possible precursors to brassinosteroids in the

- pollen of *Cupressus arizonica*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1995, **59**, 956-959.
- [130] A. Friebe, A. Volz, J. Schmidt, B. Voigt, G. Adam, H. Schnabl. 24-Episcasterone and 24-Epicasterone from *Lychnis viscaria* seeds. *Phytochemistry*, 1999, im Druck.
- [131] T. Yokota, S.-K. Kim, Y. Kosaka, Y. Ogino und N. Takahashi. Conjugation of brassinosteroids. In: K. Schreiber, H. R. Schütte und G. Semadeni (eds.) "Conjugated Plant Hormones. Structure, Metabolism and Function", Proc. Int. Symposium, Gera, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin, 1986, pp. 286-296.
- [132] J. M. Sasse. Recent progress in brassinosteroid research. *Physiol. Plantarum*, 1997, **100**, 696-701.
- [133] T. Yokota und K. Mori. Molecular structure and biological activity of brassinolide and related brassinosteroids. In: M. Bohl, W. L. Duax (eds.) "Molecular structure and biological activity of steroids", CRC Press Boca Raton, Florida, 1992, pp. 317-339.
- [134] S. Takatsuto, N. Yazawa, N. Ikekawa, T. Takematsu, Y. Takeuchi und M. Koguchi. Structure-activity relationship of brassinosteroids. *Phytochemistry*, 1983, **22**, 2437-2441.
- [135] S. Takatsuto, N. Ikekawa, T. Morishita und H. Abe. Structure-activity relationship of brassinosteroids with respect to the A/B-ring functional groups. *Chem. Pharm. Bull.*, 1987, **35**, 211-216.
- [136] C. Brosa. Biological effects of brassinosteroids. In: E. J. Parish und W. D. Nes (eds.) "Biochemistry and Function of Sterols", CRC Press Boca Raton New York London Tokyo, 1997, pp. 201-220.
- [137] C. Brosa. Structure-activity relationship. In: A. Sakurai, T. Yokota und S. Clouse (eds.) "Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones", Springer-Verlag Tokyo, 1999, pp. 191-222.
- [138] T. C. McMorris und P. A. Patil. Improved synthesis of 24-epibrassinolide from ergosterol. *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 2338-2339.
- [139] D. Lichtblau. Synthese chromophorer und deuterierter Derivate der Brassinosteroide 24-Epicasteron und 24-Epibrassinolid. Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 1994, 60 Seiten.
- [140] G. Adam. Brassinosteroid-Phytohormone als Paradigma interdisziplinärer Naturstoff-Forschung. 16. Fränkisch/sachsen-anhaltinisches Naturstoffchemiker-Treffen, Halle, 30.10.1998.
- [141] M. Arima, T. Yokota und N. Takahashi. Identification and quantification of brassinolide-related steroids in the insect gall and healthy tissues of the chestnut plant. *Phytochemistry*, 1984, **23**, 1587-1591.
- [142] E. Maeda. Rate of lamina inclination in excised rice leaves. *Physiol. Plant*, 1965, **18**, 813-827.
- [143] K. Wada, S. Marumo, N. Ikekawa, M. Morisuki und K. Mori. Brassinolide and homobrassinolide promoting of lamina inclination of rice seedlings. *Plant Cell Physiol.*, 1981, **22**, 323-325.
- [144] D. W. Meinke, J. M. Cherry, C. Dean, S. D. Rounsley und M. Koornneef. *Arabidopsis th.*: A model plant for genome analysis. *Science*, 1998, **282**, 662.
- [145] Lexikon der Biologie, Verlag Herder Freiburg, 1986, Ergänzungsbände 1994/1995.
- [146] T. Altmann. Persönliche Mitteilungen.
- [147] T. Murashige und F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 1962, 473-497.
- [148] W.-S. Zhou. Methods for construction of sidechain of brassinosteroids and application to synthesis of brassinosteroids. *Progress Nat. Sci.*, 1994, **4**, 129-136.

- [149] D. H. R. Barton, P. G. Ferkins, J. P. Poyser und P. G. Sammes. A synthesis of the insect molting hormone, ecdysone, and related compounds. *J. Chem. Soc. (C)*, 1970, 1584-1590.
- [150] K. Mori, M. Sakakibara, Y. Ichikawa, H. Ueda, K. Okada, T. Umemura, G. Yabuta, S. Kuwahara, M. Kondo, M. Minobe und A. Sogabe. Brassinolide and its analogs. Part I. Synthesis of (22S,23S)-homobrassinolide and brassinolide from stigmasterol. *Tetrahedron*, 1982, **38**, 2099-2109.
- [151] K. Mori, M. Sakakibara und K. Okada. Synthesis of naturally occurring brassinosteroids employing cleavage of 23,24-epoxides as key reactions, synthesis of brassinolide, castasterone, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 1767-1781.
- [152] M. Aburatani, T. Takeuchi und K. Mori. Structural revision of the acetal intermediates in brassinolid synthesis. *Agric. Biol. Chem.*, 1985, **49**, 3557-3562.
- [153] T. Kametani und M. Tsubuki. Strategies for the synthesis of ecdysteroids. In: J. Koolmann (ed.) "Ecdysones", Thieme-Verlag, 1989, 74-96.
- [154] D. M. Piatak und J. Wicha. Various approaches to the construction of aliphatic side chain of steroids and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **78**, 199-241.
- [155] T. G. Back, P. G. Blazecka und M. V. Krishna. A new synthesis of castasteron and brassinolide from stigmasterol. A concise and stereoselective elaboration of the side chain from a C-22 aldehyde. *Can. J. Chem.*, 1993, **71**, 156-163.
- [156] T. G. Back, P. G. Blazecka und M. V. Krishna. A concise synthesis of the brassinolide side chain. *Tetrahedron Lett.*, 1991, **32**, 4817-4818.
- [157] T. Kametani, M. Kigawa, M. Tsubuki und T. Honda. Stereocontrolled synthesis of the brassinolide side-chain: Formal synthesis of brassinolide. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1988, 1503-1507.
- [158] T. Kametani, K. Keino, M. Kigawa, M. Tsubuki und T. Honda. Stereocontrolled Synthesis of the brassinolide side chain via a pyranone derivative. *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 3141-3142.
- [159] T. Honda, K. Keino und M. Tsubuki. A concise stereoselective synthesis of castasterone. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1990, 650-652.
- [160] M. Tsubuki, K. Keino und T. Honda. Stereoselective synthesis of plant-growth-regulating steroids: brassinolide, castasterone, and their 24,25-substituted analogues. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1992, 2643-2649.
- [161] J. R. Donaubauer, A. M. Greaves und T. C. McMorris. A novel synthesis of brassinolide. *J. Org. Chem.*, 1984, **49**, 2834-2837.
- [162] J. A. Steele und E. Mosettig. The solvolysis of stigmasteryl tosylate. *J. Org. Chem.*, 1963, **28**, 571-572.
- [163] L. Fieser und M. Fieser. Steroide. *Verlag Chemie Weinheim*, 1961, 1065 Seiten.
- [164] M. Anastasia, A. Scula und G. Galli. Synthesis of 14 $\beta$ -cholest-5-en-3 $\beta$ -ol. *J. Org. Chem.*, 1976, **41**, 1064-1068.
- [165] S. Takatsuto. Synthesis of dolicholide from (22E,24R)-3 $\alpha$ ,5-Cyclo-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-one. *Agric. Biol. Chem.*, 1988, **52**, 2361-2363.
- [166] V. van Rheenen. Copper-catalyzed oxygenation of branched aldehydes -- an efficient ketone synthesis. *Tetrahedron Lett.*, 1969, **12**, 985-988.
- [167] M. Schröder. Osmium tetroxide *cis* hydroxylation of unsaturated substrates. *Chem. Rev.*, 1980, **80**, 187-213.
- [168] C. W. Shoppee, D. N. Jones und G. H. R. Summers. The epimeric cholestane-2,3-diols. *J. Chem. Soc.*, 1957, 3100-3107.
- [169] M. Aburatani, T. Takeuchi und K. Mori. Facile synthesis of brassinosteroids brassinolide, castasterone, teasterone, and typhasterol. *Agric. Biol. Chem.*, 1987, **51**, 1909-1913.
- [170] T. C. McMorris, R. G. Chavez und P. A. Patil. Improved synthesis of brassinolide.

- J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1996, 295-302.
- [171] H. J. Dauben, B. Löken und H. J. Ringold. Preparation of etylenedioxy derivates of ketosteroids by exchange dioxolanation. An improved synthesis of testosterone from  $\Delta^4$ -Androstene-3,17-dione. *J. Am. Chem. Soc.*, 1954, **76**, 1359-1363.
- [172] Y.-S. Hon, S.-W. Lin, L. Lu und Y.-J. Chen. The mechanistic study and synthetic applications of the base treatment in the ozonolytic reactions. *Tetrahedron*, 1995, **51**, 5019-5034.
- [173] R. Köster, A. Bußmann und G. Schroth. Alkylierungsprodukte von 1-Alkinen. *Liebigs Ann. Chem.*, 1975, 2130-2157.
- [174] K.-P. Jäckel und M. Hanack. [1,2]-Hydridwanderungen bei Solvolysen von Vinyl-trifluor-methansulfonaten. *Liebigs Ann. Chem.*, 1975, 2305-2317.
- [175] S. R. Landor, A. N. Patel, P. F. Whiter und P. M. Greaves. Allenes. Part XI. The preparation of 3-alkyl- and 3,3-dialkyl-1-bromo-allenes. *J. Chem. Soc. (C)*, 1966, 1223-1226.
- [176] J. K. Crandall, D. J. Keyton und J. Kohn. Allenes by lithium aluminium hydride reduction of propargyl derivates. *J. Org. Chem.*, 1968, **33**, 3655-3657.
- [177] Y. Hirano und C. Djerassi. Stereoselective synthesis via Claisen rearrangements of the marine sterols occelasterol, patinosterol, and 22,23-dihydrooccelasterol. *J. Org. Chem.*, 1982, **47**, 2420-2426.
- [178] G. Piancatelli, A. Scettri und M. D'Auria. Pyridinium chlorochromate: A versatile oxidant in organic synthesis. *Synthesis*, 1982, 245-258.
- [179] M. Midland und Y. C. Kwon. Stereocontrolled synthesis of 22-hydroxy-23-acetylenic steroids, key intermediates in steroid side chain construction. Observation of a directive effect by an  $\alpha$ -chiral site during asymmetric reduction with B-3-pinanyl-9-BBN (alpine-borane). *Tetrahedron Lett.*, 1984, **25**, 5981-5984.
- [180] Ch. A. Brown und V. K. Ahuja. Catalytic hydrogenation. VI. The reaction of sodium borohydride with nickel salts in ethanol solution. P-2 nickel, a highly convenient, new, selective hydrogenation catalyst with great sensitivity to substrate structure. *J. Org. Chem.*, 1973, **38**, 2226-2230.
- [181] H. Lehmkuhl und K. Ziegler. Aluminium organische Verbindungen. In: *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*, **13/4**, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1970, p. 243.
- [182] M. Bartok, K. L. Lang. Oxiranes. In: S. Patai (ed.) *"The Chemistry of Functional Groups"*, Supplement E, Part 2, Wiley-Interscience, New York, 1980, pp. 609-681.
- [183] W. R. Roush, M. A. Adam und S. M. Peseckis. Regioselectivity of the reactions of trialkylaluminium reagents with 2,3-epoxyalcohols: application to the synthesis of  $\alpha$ -chiral aldehydes. *Tetrahedron Lett.*, 1983, **24**, 1377-1380.
- [184] A. Pfaltz und A. Mattenberger. Regioselektive Öffnung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Alkoxy-epoxiden mit Trimethylaluminium. *Angew. Chem.*, 1982, **94**, 79-79.
- [185] B. G. Hazra, P. Narshinha, N. P. Argade und P. L. Joshi. A stereoselektive approach to the brassinolide side chain via Wittig reaction. *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 3375-3376.
- [186] M. S. Ahmad, M. M. Shafiullah und M. Asif. Baeyer-Villiger oxidation of 3 $\alpha$ ,5-cyclocholestan-6-one and its related 3 $\beta$ -halo-derivatives. *Indian J. Chem.*, 1970, **8**, 1062-1064.
- [187] S. Takatsuto und N. Ikekawa. Remote substituent effect on the regioselectivity in the Baeyer-Villiger oxidation of 5 $\alpha$ -cholestan-6-one derivatives. *Tetrahedron Lett.*, 1983, **24**, 917-920.
- [188] Ein nicht getrenntes Gemisch der beiden Verbindungen **22** und **23** wurde auch über eine modifizierte Synthese erhalten. F. Werner, *Dissertation, Louis Pasteur University Strasbourg*, 1996.

- [189] M. Anastasia, P. Ciuffreda, M. Del Puppo und A. Fiecchi. Synthesis of castasterone and its 22S,23S-isomer: two plant growth promoting ketones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1983, 383-386.
- [190] S. Takatsuto, N. Yazawa, M. Ishiguro, M. Morisaki und N. Ikekawa. Stereoselective synthesis of plant growth-promoting steroids, brassinolide, castasterone, typhasterol, and their 28-nor analogues. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1984, 139-146.
- [191] M. Nakane, M. Morisaki und N. Ikekawa. Stereoselectivity in the electrophilic addition reactions of stigmast-22(23)-ene derivatives. *Tetrahedron*, 1975, **31**, 2755-2760.
- [192] D. Lichtblau, A. Porzel, J. Schmidt, B. Voigt, G. Adam. Synthesis of a Novel Brassinosteroid Type with Annelated Dioxonane Side Chain. *J. Perkin Transaction 1*, 1999, 53-57.
- [193] R. Olsson, U. Berg und T. Frejd. Endocyclic cleavage of glycosides. VI. Substituent effects of the alkylative endocyclic cleavage of glycosides. *Tetrahedron*, 1998, **54**, 3935-3954.
- [194] K. Gamoh, N. Okamoto, S. Takasuto und I. Tejima. Determination of traces of natural brassinosteroids as dansylaminophenylboronates by liquid chromatography with fluorimetric detection. *Anal. Chim. Acta*, 1990, **228**, 101-105.
- [195] M. Murray. Allene, Kummulene. In: *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*, **5/2a**, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1977, p. 991.
- [196] M. Murray. Allene, Kummulene. In: *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*, **5/2a**, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1977, pp. 1000-1001.
- [197] A. Claesson und C. Bogentoft. Formation of conjugated dienes on lithium aluminium hydride. Reduction of allenic *tert.*-alcohols. *Acta Chem. Scand.*, 1972, **26**, 2540-2542.
- [198] Red-Al<sup>®</sup> [65 Gew.-% Lsg. Von Natrium-bis-(2-methoxyethoxy)-aluminiumdihydrid in Toluol] von Aldrich-Chemikalien.
- [199] R. Radinov und E. S. Schnurmann. Red-Al<sup>®</sup> reduction of 4-Silyloxy propargylic alcohols. A surprising round trip for the silyl group. *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 243-244.
- [200] M. Laux und N. Krause. Ruthenium-catalyzed flash oxidation of allenes to  $\alpha,\alpha'$ -Dihydroxyketones. *Synlett*, 1997, 765-766.
- [201] D. R. Andrews, R. A. Giusto und A. R. Sudhakar. A corticoid synthesis from 9 $\alpha$ -hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione *via* a steroidal allene. *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 3417-3420.
- [202] J. K. Crandall und D. J. Batal. Allene epoxidation. Efficient synthesis and synthetic conversions of 1,4-Dioxaspiro[2.2]pentanes. *J. Org. Chem.*, 1988, **53**, 1338-1340.
- [203] J. K. Crandall und E. Rambo. Allene Epoxidation. Oxidative cyclization of allenyl acids. *J. Org. Chem.*, 1990, **55**, 5929-5930.
- [204] J. K. Crandall, D. J. Batal, D. P. Sebesta und F. Lin. 1,4-Dioxaspiro[2.2]pentanes. Synthesis, spectroscopic properties, and reactions with nucleophiles. *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 1153-1166.
- [205] (a) W. Adam, L. Hadjarapoglou, R. Curci und R. Mello. Dioxiranes, three-membered ring cyclic peroxides. In: W. Ando (ed.) *"Organic Peroxides"*, John Wiley & Sons Inc., New York, 1992, pp. 195-219. (b) W. Adam und L. Hadjarapoglou. Dioxiranes: Oxidation chemistry made easy. In: W. A. Herrmann (ed.) *"Topics of Current Chemistry"*, 1993, **164**, pp. 45-62.
- [206] W. Adam, J. Bialas und L. Hadjarapoglou. A convenient preparation of acetone solutions of dimethyldioxirane. *Chem. Ber.*, 1991, **124**, 2377.
- [207] W.-S. Zhou, L.-F. Huang, L.-Q. Sun und X.-F. Pan. Studies on steroidal plant-growth regulator 21. A stereoselective construction of brassinolide side chain. A

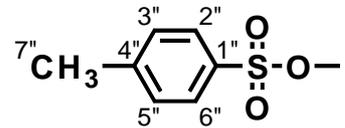
- new practical synthesis of brassinolide and its analogues. *Tetrahedron Lett.*, 1991, **32**, 6745-6748.
- [208] F. Jin, Y. Xu und W. Huang. 2,2-Difluoro enol silyl ethers: Convenient preparation and application to the synthesis of a novel fluorinated brassinosteroid. *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, 1993, 795-799.
- [209] R. P. Litvinovskaya, S. V. Drach und V. A. Khripach. A new synthetic pathway to the side chain of 28-norbrassinolide. *Zh. Org. Khim.*, 1996, **32**, 1279-1280.
- [210] L. Lombardo. Methylation of carbonyl compounds with  $Zn-CH_2Br_2-TiCl_4$ . Applications to gibberellins. *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 4293-4296.
- [211] F. N. Tebbe, G. W. Marshall und G. S. Reddy. Olefin homologation with titanium methylene compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 3611-3613.
- [212] C. Lamberth. Tebbe's Reagenz:  $Cp_2TiCH_2AlClMe_2$ . *J. prak. Chem.*, 1994, **336**, 632-633.
- [213] Tebbe-Reagenz von Aldrich-Chemikalien.
- [214] S. H. Pine, G. S. Shen und H. Hoang. Ketone methylenation using the Tebbe and Wittig reagents - a comparison. *Synthesis*, 1991, 165-167.
- [215] S. H. Pine, R. Zahler, D. A. Evans und R. H. Grubbs. Titanium-mediated methylene-transfer reactions. Direct Conversion of esters into vinyl ethers.. *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 3270-3272.
- [216] S. H. Pine, R. J. Pettit, G. D. Geib, S. G. Cruz, C. H. Gallego, T. Tijerina und R. D. Pine. Carbonyl Methylation using a titanium-aluminium (Tebbe) complex. *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 1212-1216.
- [217] S. Takatsuto, C. Gotoh, T. Noguchi, T. Nomura, S. Fujioka und T. Yokota. Synthesis of deuterio-labelled 24-methylenecholesterol and related steroids. *J. Chem. Research (S)*, 1998, 206-207.
- [218] K. Mori und T. Takeuchi. Synthesis of 25-methyldolichosterone, 25-methyl-2,3-diepidolichosterone, 25-methylcastasterone and 25-methylbrassinolide. *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 815-821.
- [219] T. Yokota, Y. Ogino, N. Takahashi, H. Saimoto, S. Fujioka und A. Sakurai. Brassinolide is biosynthesized from castasterone in *Catharanthus roseus* crown gall cells. *Agric. Biol. Chem.*, 1990, **54**, 1107-1108.
- [220] T. Yokota, S. Watanabe, Y. Ogino, I. Yamaguchi und N. Takahashi. Radioimmunoassay for brassinosteroids and its use for comparative analysis of brassinosteroids in stems and seeds of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Growth Regul.*, 1990, **9**, 151-159.
- [221] W.-S. Zhou, L.-F. Huang, L.-Q. Sun und X.-F. Pan. Studies on steroidal plant-growth regulator 21. A stereoselective construction of brassinolide side chain. A new practical synthesis of brassinolide and its analogues. *Tetrahedron Lett.*, 1991, **32**, 6745-6748.
- [222] W.-S. Zhou, L.-F. Huang, L.-Q. Sun und X.-F. Pan. Studies on steroidal plant-growth regulator 26. Stereoselective construction of the brassinolide sidechain: New practical syntheses of brassinolide analogues from hyodeoxycholic acid. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1992, 2039-2043.
- [223] (a) B. Voigt. Persönliche Mitteilungen. (b) B. Voigt, A. Porzel, D. Golsch, W. Adam und G. Adam. Regioselective oxyfunctionalization of brassinosteroids by methyl(trifluoromethyl)dioxirane: Synthesis of 25-hydroxy-brassinolide and 25-hydroxy-24-epibrassinolide by direct C-H insertion. *Tetrahedron*, 1996, **52**, 10653-10658.
- [224] R. R. Sicinski und H. F. DeLuca. Ruthenium tetroxide oxidation of Grundmann's ketone derived from vitamin D<sub>3</sub>. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 159-162.

- [225] T. Shingaki, K. Miura, M. Hirobe und T. Nagano. Regio- und stereo-selective oxidation of steroids using 2,6-dichloropyridine *N*-oxide catalysed by ruthenium porphyrins. *Chem. Commun.*, 1997, 861-862.
- [226] K. Orito, Sh. Sato und H. Suginome. Photoinduced molecular transformation. Part 153. Long-range intramolecular hydroxylation of C(25) of the cholestane side chain. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1995, 63-67.
- [227] (a) P. Bovicelli, P. Lupatelli, E. Mincione, T. Prencipe und R. Curci. Oxidation of natural targets by dioxiranes. Oxyfunctionalization of steroids. *J. Org. Chem.*, 1992, **57**, 2182-2184. (b) P. Bovicelli, P. Lupatelli, E. Mincione, T. Prencipe und R. Curci. Oxidation of natural targets by dioxiranes. 2. Direct hydroxylation at the side-chain C-25 of cholestane derivatives and of vitamin D<sub>3</sub> Windaus-Grundmann ketone. *J. Org. Chem.*, 1992, **57**, 5052-5054.
- [228] K. Mori und T. Takeuchi. Synthesis of 25-methyldolichosterone, 25-methyl-2,3-diepidolichosterone, 25-methylcastasterone and 25-methylbrassinolide. *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 815-821.
- [229] A. Porzel, V. Marquardt, G. Adam, G. Massiot und D. Zeigan. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR analysis of brassinosteroids. *Magn. Reson. Chem.*, 1992, **30**, 651-657.
- [230] B. Luu und F. Werner. Sterols that modify moulting in insects. *Pestic. Sci.*, 1996, **46**, 49-53.
- [231] C. Brosa, S. Nusimovich und R. Peracaula. Synthesis of new brassinosteroids with potential activity as antiecdysteroids. *Steroids*, 1994, **59**, 463-467.
- [232] Homocastasteron und Homobrassinolid wurden nach bekannten Verfahren hergestellt. T. McMorris, P. A. Patil, R. G. Chavez, M. E. Baker und S. D. Clouse. Synthesis and biological activity of 28-homobrassinolide and analogues. *Phytochemistry*, 1994, **36**, 585.
- [233] S. Takatsuto, F. Futatsuya, K. Kobayashi und H. Satoh. Synthesis and biological activity of 22,23-epoxybrassinosteroid 2,3-diacetates. *Agric. Biol. Chem.*, 1989, **53**, 263-265.
- [234] V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii und E. V. Zhernosek. Synthese einiger analoger Verbindungen von 24-Epibrassinolid. *Weszi Akad. Nauk Bjelorusi Ser. Chim. Nauk (russ.)*, 1995, 64-67.
- [235] V. Fuendjiep, G. Charles und D. Chriqui. Hemisynthese et activite physiologique des methyl-28 brassinolides 22R,23S et 22S,23R. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1989, 711-715.

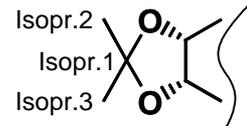
## NMR-Tabellen

Numerierung von Substituenten und Schutzgruppen

Tosylat

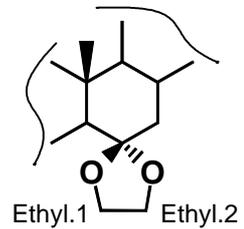
[3 $\beta$ -Tosyloxy-, TsO-]

Acetonid

[2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Isopropylidendioxy-]

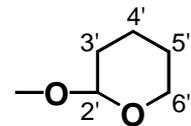
Ketal

[6,6-ethylendioxy-]



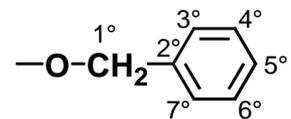
Tetrahydropyranylether

[25-(1'-Tetrahydropyranyloxy)-, -OTHP]



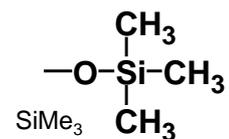
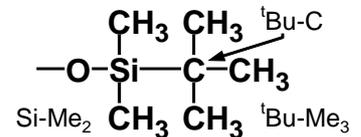
Benzylether

[25-benzyloxy-, -OBn]



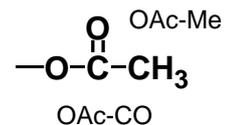
Trimethylsilylether

[23-Trimethylsilyloxy-, -OSiMe]

*tert.*-Butyldimethylsilylether[[*tert.*-Butyldimethyl)silyloxy-, <sup>t</sup>BuMe<sub>2</sub>SiO-]

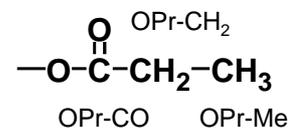
Acetate

[Acetoxy-, -OAc]



Propionsäureester

[Propionyloxy-, PrO-]



**Tabelle 3.** Ausgewählte  $^1\text{H}$  NMR-Daten der Verbindungen **1**, **2**, **3**, **4** und **5** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>1</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>2</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>3</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>4</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>5</b> $\delta$ , J (Hz)
2	n.z.	n.z.	n.z.	n.z.	5.69
3	3.54	4.32	n.z.	n.z.	5.60
4	n.z.	n.z.	4 $\alpha$ : 0.29 dd (8.1/4.9) 4 $\beta$ : 0.52 t (4.1)	n.z.	n.z.
6	5.35 d (5.1)	5.30 br d (5.1)	3.26 t (2.7)	n.z.	n.z.
7	n.z.	n.z.	n.z.	2.44 1H	n.z.
18	0.68 s	0.68 s	0.68 s	0.74 s	0.69 s
19	1.01 s	0.97 s	1.06 s	1.01 s	0.71 s
21	1.02 d (6.6)	1.01 d (6.6)	1.02 d (6.6)	1.03 d (6.6)	1.03 d (6.6)
22 <sup>d</sup>	5.15 dd (15.1/8.5)	5.14 dd (15.1/8.5)	5.16 dd (15.1/8.5)	5.16 dd (15.1/8.3)	5.16 dd (15.3/8.4)
23 <sup>d</sup>	5.00 dd (15.1/8.5)	5.00 dd (15.1/8.5)	5.01 dd (15.1/8.5)	5.03 dd (15.1/8.8)	5.02 dd (15.1/8.5)
26 <sup>a</sup>	0.85 d (6.9)	0.84 d (6.9)	0.85 d (6.4)	0.85 d (6.4)	0.84 d (6.4)
27 <sup>a</sup>	0.79 d (6.1)	0.79 d (6.1)	0.80 d (6.6)	0.80 d (6.1)	0.79 d (6.3)
29	0.80 t (7.3)	0.80 t (7.3)	0.81 t (7.3)	0.81 t (7.3)	0.80 t (7.3)
2''/6''	-	7.80 d (8.3)	-	-	-
3''/5''	-	7.33 d (8.1)	-	-	-
7''	-	2.45 s	-	-	-

**Tabelle 4.** Ausgewählte  $^1\text{H}$  NMR-Daten der Verbindungen **6**, **7**, **8** und **9** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>6</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>7</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>8</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>9</b> $\delta$ , J (Hz)
2	3.77	4.10	4.10 m	4.11
3	4.05 br s	4.28	4.27 m	4.27
5 $\alpha$	2.68 dd (12.5/4.0)	2.54 dd (12.8/4.0)	1.80 m	n.z.
7	7 $\beta$ : 2.30 dd (13.1/4.6)	7 $\beta$ : 2.32 dd (13.1/4.2)	1.75 dd (13.1/3.7) 1.01	n.z.
18	0.67 s	0.67 s	0.68 s	0.71 s
19	0.76 s	0.68 s	0.84 s	0.84 s
21	1.02 d (6.7)	1.02 d (6.7)	1.01 d (6.7)	1.12 d (6.9)
22	5.14 dd (15.1/8.7)	5.14 dd (15.0/8.5)	5.14 dd (15.1/8.7)	9.56 d (3.3)
23	5.01 dd (15.1/8.7)	5.02 dd (15.1/8.7)	5.01 dd (15.3/8.8)	-
26 <sup>a</sup>	0.84 d (6.4)	0.84 d (6.4)	0.84 d (6.7)	-
27 <sup>a</sup>	0.79 d (6.4)	0.79 d (6.7)	0.79 d (7.3)	-
29	0.80 t (7.3)	0.80 t (7.3)	0.80 t (7.5)	-
Isopr.2 <sup>b</sup>	-	1.50 s	1.48 s	1.48 s
Isopr.3 <sup>b</sup>	-	1.34 s	1.33 s	1.33 s
Ethyl.1 <sup>c</sup>	-	-	3.96/3.91	3.92/3.92
Ethyl.2 <sup>c</sup>	-	-	3.91/3.74	3.92/3.76
	-	-	-	2.35 1H

Weitere  $^1\text{H}$  NMR-Daten für Verbindung **9** <sup>e</sup>: 1: 1.91/1.05, 4: 2.15 m/1.80 m, 8: 1.51, 9: 0.76, 11: 1.53/1.30, 12: 1.97 m/1.15, 14: 1.03, 15: 1.51/1.03, 16: 1.69 m/1.23, 17: 1.14, 20: 2.02 m.

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>d</sup> Protonen sind vertauschbar.

<sup>e</sup> Daten ohne Multiplettspezifikation sind Verschiebungen von HSQC Korrelationspeaks.

**Tabelle 5.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **11**, **12**, **13**, **14** und **15a** (in CDCl<sub>3</sub>).

	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15a</b>
Position	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)
2	4.10	4.10	4.10	4.10	4.11
3	4.27	4.27	4.27	4.27	4.27
18	0.68 s	0.69 s	0.69 s	0.67 s	0.68 s
19	0.84 s	0.84 s	0.84 s	0.84 s	0.84 s
21	1.09 d (6.6)	1.02 d (6.6)	1.20 d (6.6)	0.95 d (6.3)	0.98 d (6.6)
22	4.44 br s	4.40 br s	-	4.54 d (7.4)	3.60 br d (5.8)
23	-	-	-	5.41 t (7.7)	3.06 dd (6.3/4.4)
24	-	-	-	5.24 t (10.3)	2.67 dd (9.6/4.4)
26 <sup>a</sup>	1.16 d (6.9)	1.17 d (6.9)	1.24 d (6.9)	0.97 d (5.7)	1.09 d (6.3)
27 <sup>a</sup>	1.16 d (6.9)	1.17 d (6.9)	1.24 d (6.9)	0.96 d (3.0)	1.06 d (6.0)
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.47 s	1.48 s	1.48 s	1.48 s
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.33 s	1.33 s	1.32 s	1.32 s
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.92/3.92	3.92/3.92	3.91/3.91	3.92/3.92	3.92/3.92
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.92/3.75	3.92/3.76	3.91/3.76	3.92/3.76	3.92/3.76
	-	-	2.73 1H	-	-
	2.58 1H	2.58 1H	2.51 1H	2.58 1H	-
	-	-	2.16 1H	-	-

**Tabelle 6.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **15b**, **16**, **17**, **18** und **19** (in CDCl<sub>3</sub>).

	<b>15b</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>
Position	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)
2	4.11	4.10	3.77	3.72	3.70
3	4.27	4.27	4.05 d (2.8)	4.03 br s	3.99 br s
5α	-	-	2.69 dd (12.5/3.0)	3.12 dd (12.2/4.3)	4.62 dd (11.3/5.2)
7	-	-	7β: ( 2.30 dd (13.1/4.6)	4.09/4.09	2.48/2.48
18	0.67 s	0.68 s	0.69 s	0.72 s	0.71 s
19	0.84 s	0.84 s	0.76 s	0.93 s	0.93 s
21	0.96 d (7.2)	0.90 d (6.0)	0.91 d (6.7)	0.90 d (6.7)	0.88 d (6.7)
22	3.62 br s	3.55 d (8.2)	3.56 d (8.5)	3.54 d (6.7)	3.53 d (8.2)
23	2.63 dd (7.0/2.3)	3.72 d (8.2)	3.72 d (7.0)	3.72 dd (8.6/1.8)	3.70 d (7.3)
24	2.83 t (2.7)	-	-	-	-
26 <sup>a</sup>	1.02 d (6.6)	0.97 d (6.3)	0.97 d (6.7)	0.97 d (6.7)	0.95 d (8.8)
27 <sup>a</sup>	1.01 d (6.3)	0.95 d (6.6)	0.95 d (6.7)	0.95 d (6.7)	0.94 d (8.5)
28	-	0.85 d (7.0)	0.85 d (7.0)	0.85 d (6.2)	0.84 d (6.7)
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.48 s	-	-	-
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.33 s	-	-	-
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.92/3.92	3.93/3.93	-	-	-
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.92/3.75	3.93/3.76	-	-	-

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

**Tabelle 7.**  $^1\text{H}$  NMR-Daten der Verbindungen **20**, **21**, **22**, **23a** und **23b** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>20</b> <sup>d</sup> $\delta$ , J (Hz)	<b>21</b> <sup>d</sup> $\delta$ , J (Hz)	<b>22</b> <sup>d</sup> $\delta$ , J (Hz)	<b>23a</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>23b</b> $\delta$ , J (Hz)
1	1.91/1.06	1.92/1.05	1.91/1.05	n.z.	n.z.
2	4.10 ddd (10.8/6.8/5.1)	4.10 m	4.10	4.10	4.10
3	4.27 m	4.28 m	4.28	4.27	4.27
4	2.15/1.80	2.15/1.80	2.15/1.80	2.15/n.z.	2.11/n.z.
5 $\alpha$	1.80	1.80	1.81	n.z.	n.z.
7	1.75/1.02	1.75/1.02	1.75/1.03	n.z.	n.z.
8	1.51	1.51	1.52	n.z.	n.z.
9	0.78 ddd (12.1/10.8/4.1)	0.77	0.79	n.z.	n.z.
11	1.55/1.30	1.54/1.31	1.56/1.32	n.z.	n.z.
12	1.95/1.17	2.00/1.16	1.94/1.24	n.z.	n.z.
14	1.09	1.04	1.09	n.z.	n.z.
15	1.60/1.09	1.58/1.09	1.59/1.10	n.z.	n.z.
16	1.89/1.35	1.80/1.30	1.78/1.26	1.95/1.37	1.98/1.34
17	1.47	1.24	1.63	1.55	1.59
18	0.68 s	0.69 s	0.70	0.67	0.67
19	0.84 s	0.84 s	0.84	0.84	0.83
20	1.59	1.74	2.53 m	1.47	1.41
21	1.10 d (6.8)	1.04 d (6.7)	1.22 d (6.6)	0.96 d (6.6)	0.99 d (6.7)
22	4.48 br s	4.45 d (3.6)	-	4.70 br s ( $\Delta_{1/2}=8.5$ ) [4.89 br s ( $\Delta_{1/2}=12.0$ )] <sup>e</sup>	4.73 br d (7.5) [4.95 d (7.2)] <sup>e</sup>
23	-	-	-	5.46 [5.52 dd (12.5/6.1)] <sup>e</sup>	5.56 dd (12.2/7.5) [5.70 dd (12.3/7.2)] <sup>e</sup>
24	-	-	-	5.46 [5.36 dd (12.5/1.4)] <sup>e</sup>	5.43 dd (12.2/0.8) [5.33 dd (12.3/1.2)] <sup>e</sup>
26 <sup>a</sup>	1.52 s	1.53 s	1.59 s	1.42 s	1.40 s
27 <sup>a</sup>	1.48 s	1.49 s	1.55 s	1.41 s	1.38 s
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.47 s	1.48 s	1.48 s	1.48 s
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.33 s	1.33 s	1.33 s	1.33 s
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.95/3.90	3.95/3.90	3.95/3.90	3.93/3.93	3.94/3.94
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.90/3.75	3.91/3.74	3.90/3.74	3.93/3.74	3.94/3.74
2'	5.03 m	5.02 m	5.00 m	4.83 m	4.76 m
3'	1.70/1.53	1.69/1.52	1.72/1.54	1.72/1.56	1.70/1.55
4'	1.84/1.52	1.84/1.52	1.85/1.54	1.85/1.53	1.85/1.54
5'	1.52/1.52	1.52/1.52	1.54/1.54	1.52/1.52	1.51/1.51
6'	3.95/3.49	3.95/3.48	3.95/3.50	3.94/3.47	3.96/3.47

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>d</sup>  $^1\text{H}$ -Daten ohne Multiplettspezifikation sind Verschiebungen von HSQC Korrelationspeaks.<sup>e</sup> In  $\text{C}_6\text{D}_6$ .

**Tabelle 8.**  $^1\text{H}$  NMR-Daten der Verbindungen **24a**, **24b**, **25** und **26** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>24a</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>24b</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>25</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>26</b> $\delta$ , J (Hz)
1	n.z.	n.z.	n.z.	1.75/1.55
2	4.10	4.10	4.10	3.76 ddd (11.6/4.5/2.9)
3	4.27	4.27	4.27	4.05 ddd (2.9/2.9/2.9)
4	2.16/n.z.	2.16/n.z.	2.16/n.z.	1.91/1.71
5 $\alpha$	n.z.	n.z.	n.z.	2.69 dd (12.6/3.0)
7	n.z.	n.z.	n.z.	2.30 dd (13.2/4.6) 2.01 dd (13.2/13.2)
8	n.z.	n.z.	n.z.	1.77
9	n.z.	n.z.	n.z.	1.40
11	n.z.	n.z.	n.z.	1.66/1.32
12	n.z.	n.z.	n.z.	2.02/1.31
14	n.z.	n.z.	n.z.	1.33
15	n.z.	n.z.	n.z.	1.56/1.09
16	1.89/1.27	1.87/1.39	1.97/1.19	1.99/1.21
17	1.60	1.57	1.63	1.69
18	0.68	0.68	0.66 s	0.66 s
19	0.84	0.84	0.84 s	0.76 s
20	1.54	1.64 m	1.50	1.51
21	1.08 d (6.5)	1.07 d (6.5)	0.92 d (6.6)	0.93 d (6.7)
22	3.99 br d (6.1)	4.15 br d (6.2)	3.40 br d (8.8)	3.41 d (8.8)
23	2.97 dd (6.1/4.3)	2.99 dd (6.2/4.4)	3.32 dd (8.8/8.8)	3.33 dd (8.8/8.8)
24	2.91 d (4.3)	2.89 d (4.4)	3.23 s	3.22 s
26 <sup>a</sup>	1.42 s	1.45 s	1.32 s	1.32 s
27 <sup>a</sup>	1.33 s	1.36 s	1.15 s	1.15 s
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.48 s	1.48 s	-
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.33 s	1.33 s	-
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.92/3.92	3.93/3.93	3.92/3.92	-
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.92/3.76	3.93/3.75	3.92/3.76	-
2'	4.86 m	4.82 m	4.23 m	4.23 ddq (14.9/3.1/6.1)
3'	1.67/1.51	1.69/1.49	1.52/1.52	1.52/1.52
4'	1.81/1.51	1.81/1.53	1.74/1.63	1.73/1.64
5'	1.50/1.50	1.48/1.48	1.84/1.53	1.84/1.53
6'	3.95/3.46	3.90/3.45	4.02 m/3.43 m	4.03 m/3.41 m
2'-Me	-	-	1.11 d (6.2)	1.11 d (6.1)

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

**Tabelle 9.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **27**, **28**, **29** und **30** (in CDCl<sub>3</sub>).

Position	<b>27</b> δ, J (Hz)	<b>28</b> δ, J (Hz)	<b>29</b> δ, J (Hz)	<b>30</b> δ, J (Hz)
2	4.10	4.10	4.10	4.09
3	4.27	4.28	4.27	4.27
4	4α: 2.16	4α: 2.16	4α: 2.16	4α: 2.15
18	0.68 s	0.67 s	0.67 s	0.62 s
19	0.83 s	0.82 s	0.83 s	0.82 s
21	1.10 d (6.9)	1.04 d (6.6)	1.22 d (6.9)	0.92 d (6.0)
22	4.49 d (1.6)	4.47 d (3.6)	-	4.59 d (3.8)
23	-	-	-	5.49
24	-	-	-	5.49
26 <sup>a</sup>	1.54 s	1.55 s	1.61 s	1.48 s
27 <sup>a</sup>	1.54 s	1.55 s	1.61 s	1.44 s
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.49 s	1.49 s	1.48 s
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.34 s	1.33 s	1.32 s
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.92/3.92	3.92/3.92	3.92/3.92	3.92/3.92
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.92/3.74	3.92/3.75	3.92/3.75	3.92/3.75
1°	4.62 s	4.64 d (0.9)	4.65 s	4.49
3°-7°	7.32	7.32	7.31	7.30
	-	-	2.52 1H	-

**Tabelle 10.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **31**, **32** und **33** (in CDCl<sub>3</sub>).

Position	<b>31</b> δ, J (Hz)	<b>32</b> δ, J (Hz)	<b>33</b> <sup>d,e</sup> δ, J (Hz)
2	4.11	4.10	3.69 m
3	4.27	4.28	3.98 m
4	4α: 2.15	2.15/1.80	4α: 1.85; 4β: 1.58
18	0.62 s	0.67 s	0.70 s
19	0.83 s	0.84 s	0.77 s
21	1.05 d (6.6)	0.92 d (6.4)	0.91 d (6.7)
22	3.95	3.58	3.55
23	2.99	4.10	4.04 d (7.0)
24	2.99	n.z.	1.44
26 <sup>a</sup>	1.46 s	1.45 s	1.34 s
27 <sup>a</sup>	1.37 s	1.34 s	1.24 s
28	-	1.02 (6.9)	0.96 d (7.0)
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.48 s	-
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.32 s	1.33 s	-
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.95/3.95	3.92/3.92	-
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.95/3.75	3.92/3.75	-
1''	4.55	4.46	-
3''-7''	7.30	7.31	-

Weitere <sup>1</sup>H NMR-Daten für Verbindung **33** <sup>d,e</sup>: 1α: 1.56, 1β: 1.74, 5α: 2.71 dd (12.7/2.9), 7α: 2.05; 7β: 2.28 dd (13.1/4.6), 8: 1.81, 9: 1.43, 11α: 1.69, 11β: 1.46, 12α: 1.33, 12β: 2.05, 14: 1.36, 15: 1.60/1.12, 16: 2.01/1.28, 17: 1.62, 20: 1.46.

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>d</sup> Daten ohne Multiplettspezifikation sind Verschiebungen von HSQC Korrelationspeaks.

<sup>e</sup> Gemessen in CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD = 3:1.

**Tabelle 11.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **34**, **35**, **36**, **36a** und **37** (in CDCl<sub>3</sub>).

	<b>34</b>	<b>35<sup>d</sup></b>	<b>36</b>	<b>36a</b>	<b>37</b>
Position	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)
2	4.10 m	4.10 m	4.10 m	4.10 m	4.10 m
3	4.27 m	4.27 m	4.28 m	4.27 m	4.28 m
18	0.68 s	0.68 s	0.71 s	0.68 s	0.69 s
19	0.84 s	0.83 s	0.84 s	0.83 s	0.84 s
21	0.91 d (6.6)	0.95 d (6.6)	1.05 d (6.6)	0.86 d (6.6)	1.00 d (6.9)
22	4.21 d (2.5)		3.84 dd (10.4/1.6)	3.86	4.11 d (10.2)
23	5.02 m	5.60-5.80 2H m	4.20 d (10.4)	3.92	4.20 d (10.4)
24	-	5.60-5.80 2H m	-	-	-
26 <sup>a</sup>	1.74 d (2.2)	1.34 s	1.30 s	1.50	1.26 s
27 <sup>a</sup>	1.73 d (2.4)	1.25 s	1.25 s	1.09	1.23 s
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.48 s	1.48 s	1.48	1.49 s
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.33 s	1.33 s	1.33	1.33 s
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.92	3.92	3.92	3.92	3.92
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.92/3.76	3.93/3.75	3.92/3.75	3.92/3.75	3.93/3.75
2'	-	4.88 u. 4.94 1H	-	-	-
6'	-	3.94/3.39	-	-	-
SiMe <sub>3</sub>	-	-	-	-	0.18

**Tabelle 12.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **38**, **39**, **40** und **41** (in CDCl<sub>3</sub>).

	<b>38</b>	<b>39</b>	<b>40<sup>e,f</sup></b>	<b>41</b>
Position	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)	δ, J (Hz)
2	4.11	4.10	3.68	4.95
3	4.28	4.27	3.98	5.39
5α	n.z.	n.z.	n.z.	2.32 dd (13.0/4.8)
18	0.67 s	0.69 s	0.70 s	0.67 s
19	0.84 s	0.83 s	0.77 s	0.83 s
21	0.95 d (6.6)	0.95 d (6.9)	0.85 d (6.1)	0.94 d (6.3)
22	3.60	3.59	4.46 brs	5.54 d (6.9/1.9)
23	4.30	4.35	4.04	3.91 dd (6.9/1.4)
26 <sup>a</sup>	1.32	1.33 s	1.33 s	1.34 s
27 <sup>a</sup>	1.28	1.29 s	1.34 s	1.34 s
28	4.95/4.90	5.11 d (2.5) 4.96 d (2.5)	5.16 t (2.4) 4.97 t (2.3)	5.09 d (1.9) 4.99 d (1.9)
Isopr.2 <sup>b</sup>	1.48 s	1.48 s	-	-
Isopr.3 <sup>b</sup>	1.33 s	1.33 s	-	-
Ethyl.1 <sup>c</sup>	3.92/3.92	3.92/3.92	-	-
Ethyl.2 <sup>c</sup>	3.92/3.75	3.92/3.74	-	-
SiMe <sub>3</sub>	0.18 s	-	-	-
OAc-Me	-	-	-	1.99 s
OAc-Me	-	-	-	2.10 s
OAc-Me	-	-	-	2.12 s

Weitere <sup>1</sup>H NMR-Daten für Verbindung **40** <sup>e,f</sup>: 1α: 1.54, 1β: 1.73, 4: 1.84 m/1.70, 5α: 2.72 dd (12.5/2.7), 7α: 2.04; 7β: 2.28 dd (13.1/4.6), 8: 1.80 m, 9: 1.41, 11α: 1.68, 11β: 1.36, 12α: 1.30, 12β: 2.04, 14: 1.36, 15: 1.59/1.12, 16: 2.00/1.39, 17: 1.56, 20: 1.57.

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung. <sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar. <sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar. <sup>d</sup> OTHP-Diastereomere erkennbar, aber nicht getrennt. <sup>e</sup> Daten ohne Multiplettspezifikation sind Verschiebungen von HSQC Korrelationspeaks. <sup>f</sup> Gemessen in CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD = 3:1.

**Tabelle 13.** Ausgewählte  $^1\text{H}$  NMR-Daten der Verbindungen **43**, **44**, **45** und **46** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>43</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>44</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>45</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>46<sup>b,c</sup></b> $\delta$ , J (Hz)
2	4.95	4.95	4.94	3.68 m
3	5.38 d (2.8)	5.38 d (2.8)	5.38 d (2.8)	3.99 m
5 $\alpha$	2.57	2.57	2.60	2.71 dd (12.8/2.8)
7	7 $\beta$ : 2.32	7 $\beta$ : 2.32	7 $\alpha$ : 2.50 dd (12.5/12.5)	7 $\alpha$ : 2.16 dd (14.3/4.6); 7 $\beta$ : 2.28 dd (13.1/4.6)
18	0.70 s	0.70 s	0.82 s	0.83 s
19	0.83 s	0.83 s	0.84 s	0.78 s
21	0.91 d (6.9)	1.05 d (7.1)	1.03 d (6.6)	0.88 d (6.7)
22	5.16 d (8.8)	5.16 d (8.8)	5.15 d (9.4)	3.57 br d (8.2)
23	5.33 dd (9.1/1.4)	5.33 dd (9.1/1.4)	5.51 d (9.4)	4.06 dd (8.5/1.4)
26 <sup>a</sup>	0.96 d (6.6)	1.21 s	1.22 s	1.35 s
27 <sup>a</sup>	0.94 d (6.6)	1.16 s	1.16 s	1.24 s
28	1.02 d (6.9)	1.05 d (7.1)	1.06 d (7.1)	0.98 d (7.0)
OAc-Me	2.09 s	2.09 s	2.08 s	-
OAc-Me	2.03 s	2.04 s	2.04 s	-
OAc-Me	2.00 s	2.00 s	2.01 s	-
OAc-Me	2.00 s	2.00 s	2.00 s	-

Weitere  $^1\text{H}$  NMR-Daten für Verbindung **46** <sup>b,c</sup>: 1 $\alpha$ : 1.56, 1 $\beta$ : 1.74, 4 $\alpha$ : 1.85 m; 4 $\beta$ : 1.69, 8: 1.81, 9: 1.43, 11 $\alpha$ : 1.69, 11 $\beta$ : 1.46, 12: 1.33/2.05, 14: 1.36, 15: 1.60/1.12, 16: 2.01/1.28, 17: 1.62, 20: 1.46.

**Tabelle 14.** Ausgewählte  $^1\text{H}$  NMR-Daten der Verbindungen **47**, **48**, **49** und **50** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>47</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>48</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>49</b> $\delta$ , J (Hz)	<b>50<sup>b,c</sup></b> $\delta$ , J (Hz)
2	4.86	4.90	4.87	3.63 m
3	5.36 br s	5.38 br s	5.36 br s	3.96 m
5 $\alpha$	3.00 dd (12.4/4.4)	4.47	2.99 dd (12.4/4.7)	3.16 dd (12.4/4.4)
7	4.10/4.10	2.49/2.49	4.10/4.10	4.13 m/4.13 m
18	0.74 s	0.72 s	0.73 s	0.74 s
19	0.98 s	1.00 s	0.98 s	0.92 s
21	0.91 d (6.3)	0.91 d (6.6)	1.04 d (6.6)	0.90 d (6.7)
22	5.14 d (8.8)	5.15 d (9.0)	5.12 d (8.8)	3.54 dd (8.5/1.2)
23	5.33 dd (8.8/1.4)	5.32 dd (9.0/1.6)	5.49 d (9.4)	4.04 dd (8.5/1.5)
26 <sup>a</sup>	0.96 d (6.6)	0.96 d (6.0)	1.21 s	1.34 s
27 <sup>a</sup>	0.94 d (6.6)	0.94 d (6.3)	1.15 s	1.24 s
28	1.01 d (6.9)	1.00 d (6.6)	1.05 d (7.1)	0.96 d (7.0)
OAc-Me	2.11 s	2.12 s	2.11 s	-
OAc-Me	2.01 s	2.01 s	2.01 s	-
OAc-Me	2.00 s	2.00 s	2.00 s	-
OAc-Me	1.99 s	2.00 s	1.99 s	-

Weitere  $^1\text{H}$  NMR-Daten für Verbindung **50** <sup>b,c</sup>: 1 $\alpha$ : 1.56, 1 $\beta$ : 1.85, 4: 2.09 m/1.88, 8: 1.73, 9: 1.31, 11 $\alpha$ : 1.80, 11 $\beta$ : 1.42, 12: 2.00/1.26, 14: 1.23, 15: 1.70/1.25, 16: 1.99/1.32, 17: 1.59, 20: 1.46.

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Daten ohne Multiplettspezifikation sind Verschiebungen von HSQC Korrelationspeaks.

<sup>c</sup> Gemessen in  $\text{CDCl}_3$ : $\text{CD}_3\text{OD}$  = 3:1.

**Tabelle 15.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **51**, **52**, **53** und **54** (in CDCl<sub>3</sub>).

Position	<b>51</b> δ, J (Hz)	<b>52</b> δ, J (Hz)	<b>53</b> δ, J (Hz)	<b>54</b> δ, J (Hz)
2	4.10	4.10	4.10	4.11
3	4.27	4.26	4.26	4.27
18	0.68 s	0.68 s	0.69 s	0.67 s
19	0.84 s	0.84 s	0.84 s	0.84 s
21	1.08 d (6.6)	1.01 d (6.6)	1.20 d (6.9)	0.96 d (5.5)
22	4.43 d (1.4)	4.38 d (3.6)	-	4.76 d (7.7)
23	-	-	-	5.39
24	-	-	-	5.39
26 <b>a</b>	1.22 s	1.21 s	1.29 s	1.13 s
27 <b>a</b>	1.22 s	1.21 s	1.29 s	1.13 s
25-Me	1.22 s	1.21 s	1.29 s	1.13 s
Isopr.2 <b>b</b>	1.48 s	1.46 s	1.47 s	1.48 s
Isopr.3 <b>b</b>	1.33 s	1.32 s	1.33 s	1.32 s
Ethyl.1 <b>c</b>	3.91/3.91	3.91/3.91	3.91/3.91	3.92/3.92
Ethyl.2 <b>c</b>	3.91/3.75	3.91/3.74	3.91/3.75	3.92/3.75
	-	-	2.48 1H	-

**Tabelle 16.** Ausgewählte <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **55**, **56**, **57** und **58** (in CDCl<sub>3</sub>).

Position	<b>55</b> δ, J (Hz)	<b>56</b> δ, J (Hz)	<b>57</b> δ, J (Hz)	<b>58</b> δ, J (Hz)
2	4.11	4.10	3.77 ddd (12.0/5.2/3.2)	3.72
3	4.27	4.27	4.05 br s	4.03 br s
5α	n.z.	n.z.	2.69 dd (12.7/3.0)	3.12 dd (12.2/4.3)
7	n.z.	n.z.	7α: 2.30 dd (13.2/4.8)	4.09/4.09
18	0.68 s	0.69 s	0.69 s	0.72 s
19	0.84 s	0.84 s	0.76 s	0.93 s
21	1.06 d (6.0)	0.95 d (6.9)	0.91 d (6.7)	0.90 d (6.7)
22	3.84 d (8.0)	3.48 dd (8.9/1.1)	3.48 dd (9.0/1.2)	3.48 dd (9.0/1.2)
23	3.03	3.78 dd (8.9/1.0)	3.77 dd (9.0/0.9)	3.77 dd (9.0/0.9)
24	2.8 d (4.4)	n.z.	n.z.	n.z.
26 <b>a</b>	1.02 s	0.96 s	0.96 s	0.96 s
27 <b>a</b>	1.02 s	0.96 s	0.96 s	0.96 s
28	-	0.85 d (7.0)	0.86 d (6.9)	0.86 (7.1)
25-Me	1.02 s	0.96 s	0.96 s	0.96 s
Isopr.2 <b>b</b>	1.48 s	1.48 s	-	-
Isopr.3 <b>b</b>	1.33 s	1.33 s	-	-
Ethyl.1 <b>c</b>	3.93/3.93	3.92/3.92	-	-
Ethyl.2 <b>c</b>	3.93/3.76	3.92/3.75	-	-

**a** Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

**b** Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

**c** Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

Tabelle 17. <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **59**, **60**, **61** und **62** (in CDCl<sub>3</sub>).

Position	<b>59</b> δ, J (Hz)	<b>60</b> δ, J (Hz)	<b>61</b> δ, J (Hz)	<b>62</b> δ, J (Hz)
1	n.z.	n.z.	1.87/1.56	1.99/1.53
2	3.74	3.86	3.73	3.79
3	3.88	3.62	4.03 brs	4.04 brs
4	n.z.	n.z.	2.14/1.96	2.19/1.90
5α	2.68 dd (12.5/3.0)	1.41 dd (13.3/3.8)	3.12 dd (12.1/4.4)	4.60 dd (11.3/5.2)
6	-	-	-	-
7	7β: 2.28 dd (13.1/4.6)	7β: 2.31 dd (13.3/4.4)	4.09/4.09	2.49/2.49
8	n.z.	n.z.	1.73	1.67
9	n.z.	n.z.	1.27	1.17
10	-	-	-	-
11	n.z.	n.z.	1.78/1.40	1.72/1.37
12	n.z.	n.z.	2.00/1.20	1.87/1.20
13	-	-	-	-
14	n.z.	n.z.	1.14	1.19
15	n.z.	n.z.	1.70/1.25	1.74/1.25
16	n.z.	n.z.	1.95/1.41	1.95/1.36
17	n.z.	n.z.	1.33	1.35
18	0.67 s	0.68 s	0.70 s	0.70 s
19	0.74 s	0.98 s	0.92 s	0.94 s
20	n.z.	n.z.	1.34	1.35
21	1.02 d (6.7)	1.02 d (6.7)	1.02 d (5.8)	1.01 d (5.8)
22	5.14 dd (15.1/8.7)	5.14 dd (15.1/8.7)	2.50 ddd (3.7/2.3/2.3)	2.49
23	5.02 dd (15.3/8.8)	5.02 dd (15.1/8.7)	2.74 dd (7.2/2.3)	2.74 dd (7.3/2.1)
24	n.z.	n.z.	0.98	0.98
25	n.z.	n.z.	1.82	1.83
26 <sup>a</sup>	0.84 d (6.4)	0.84 d (6.4)	0.93 d (7.0)	0.93 d (7.3)
27 <sup>a</sup>	0.79 d (6.4)	0.79 d (6.4)	0.93 d (7.0)	0.93 d (7.3)
28	n.z.	n.z.	1.44/1.38	1.44/1.38
29	0.80 t (7.3)	0.80 t (7.3)	0.96 t (7.5)	0.96 t (7.5)
Si-Me <sub>2</sub>	0.08 s	0.06 s/ 0.08 s	-	-
<sup>t</sup> Bu-Me <sub>3</sub>	0.90 s	0.89 s	-	-
OH	2.45 d (1.8)	2.62 d (1.8)	-	-

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

Tabelle 18. <sup>1</sup>H NMR-Daten der Verbindungen **63**, **64**, **65** und **66** (in CDCl<sub>3</sub>).

Position	<b>63</b> δ, J (Hz)	<b>64</b> δ, J (Hz)	<b>65</b> δ, J (Hz)	<b>66</b> δ, J (Hz)
1	1.86/1.55	1.94/1.53	1.91/1.62	1.92/1.61
2	3.73	3.79	4.90	4.89
3	4.03 brs	4.04 brs	5.39 brs	5.39 brs
4	2.14/1.96	2.17/1.89	2.32/1.92	2.31/1.90
5α	3.11 dd (12.2/4.3)	4.60 dd (11.3/5.2)	3.00 dd (12.2/4.3)	3.00 dd (12.2/4.3)
6	-	-	-	-
7	4.09/4.09	2.50/2.45	4.14/4.06	4.14/4.06
8	1.72	1.67	1.76	1.74
9	1.27	1.18	1.28	1.27
10	-	-	-	-
11	1.78/1.40	1.72/1.38	1.74/1.42	1.73/1.41
12	1.96/1.22	1.89/1.21	2.00/1.21	1.97/1.21
13	-	-	-	-
14	1.13	1.20	1.18	1.18
15	1.69/1.25	1.73/1.24	1.70/1.26	1.68/1.25
16	1.97/1.66	1.96/1.64	1.97/1.42	1.97/1.67
17	1.34	1.36	1.37	1.33
18	0.69 s	0.68 s	0.71 s	0.70 s
19	0.92 s	0.95 s	0.99 s	0.99 s
20	1.27	1.27	1.39	1.26
21	1.01 d (6.7)	1.00 d (6.7)	1.00 d (8.2)	1.02 d (6.7)
22	2.50	2.49	2.51 dd (6.3/2.0)	2.49
23	2.49	2.49	2.74 dd (7.3/2.1)	2.50
24	0.84	0.84	0.96	0.83
25	1.86	1.87	1.82	1.88
26 <sup>a</sup>	0.95 d (7.0)	0.94 d (7.6)	0.93 d (6.7)	0.95 d (7.9)
27 <sup>a</sup>	0.94 d (6.7)	0.94 d (7.6)	0.93 d (6.7)	0.95 d (6.4)
28	1.41/1.30	1.40/1.31	1.44/1.38	1.40/1.30
29	0.92 t (7.4)	0.92 t (7.3)	0.96 t (7.5)	0.93 t (7.3)
PrO-CH <sub>2</sub>	-	-	2.39 dd (15.0/7.6) 2.26 dd (14.8/7.5)	2.38 dd (15.0/7.6) 2.26 dd (14.8/7.5)
PrO-Me	-	-	1.18 t (7.6) 1.10 t (7.6)	1.18 t (7.6) 1.10 t (7.5)

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

**Tabelle 19.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8** und **9** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>1</b> $\delta$	<b>2</b> $\delta$	<b>3</b> $\delta$	<b>4</b> $\delta$	<b>5</b> $\delta$	<b>6</b> $\delta$	<b>7</b> $\delta$	<b>8</b> $\delta$	<b>9</b> $\delta$
1	40.5	31.7	11.5	11.6	39.4	42.8	42.7	42.7	43.1
2	42.2	36.3	33.2	33.5	125.0 <sup>d</sup>	68.4	72.4	73.0	72.9
3	71.8	82.4	24.2	34.8	124.5 <sup>d</sup>	68.3	72.2	72.9	72.8
4	39.7	39.5	40.1	33.5	21.7	26.3	22.5	22.0	21.9
5	140.5	138.9	25.0	25.9	53.4	50.7	51.5	45.5	45.5
6	121.7	123.5	73.8	209.8	212.1	212.3	211.6	109.7	109.6
7	31.6	28.6	42.9	46.8	47.0	46.8	46.9	41.0	41.0
8	31.8	31.8	29.8	35.3	37.7	37.6	37.5	32.9	32.9
9	50.2	49.9	47.7	46.1	53.8	53.7	53.4	53.0	53.0
10	36.5	36.9	37.1	25.9	40.0	40.2	41.1	38.0	38.0
11	21.0	20.9	22.6	22.8	21.1	21.2	21.1	20.7	20.7
12	37.2	38.8	38.9	39.6	39.4	39.3	39.2	39.6	39.3
13	42.3	42.2	42.6	42.6	42.7	42.6	42.5	42.4	42.7
14	56.8	56.7	56.6	57.1	56.9	56.8	56.8	56.0	55.2
15	24.3	24.3	24.2	24.1	24.0	24.0	24.0	24.2	24.5
16	28.9	28.8	29.0	28.8	28.7	28.7	28.7	28.8	26.9
17	56.0	55.9	56.1	55.9	55.9	55.8	55.8	55.9	51.0
18	12.0	12.0	12.2	12.2	12.1	12.2	12.1	12.1	12.3
19	19.4	19.1	20.2	19.6	13.5	13.5	12.6	13.4	13.4
20	40.5	40.4	40.5	40.4	40.4	40.4	40.4	40.5	49.4
21	21.2	21.2	21.2	21.2	21.2	21.1	21.1	21.2	13.4
22	138.3	138.2	138.4	138.1	138.0	138.0	138.0	138.3	205.0
23	129.3	129.4	129.3	129.5	129.6	129.6	129.6	129.3	-
24	51.2	51.2	51.2	51.2	51.2	51.2	51.2	51.2	-
25	31.8	31.8	31.9	31.8	31.8	31.8	31.8	31.8	-
26 <sup>a</sup>	21.0	21.0	21.1	21.1	21.0	21.0	21.0	21.1	-
27 <sup>a</sup>	18.9	18.9	19.0	19.0	18.9	18.9	18.9	19.0	-
28	25.4	25.4	25.4	25.4	25.4	25.4	25.4	25.4	-
29	12.2	12.2	12.3	12.2	12.2	12.2	12.2	12.1	-
1''	-	144.5	-	-	-	-	-	-	-
4''	-	134.8	-	-	-	-	-	-	-
2''/6''	-	129.8	-	-	-	-	-	-	-
3''/5''	-	127.6	-	-	-	-	-	-	-
7''	-	21.6	-	-	-	-	-	-	-
Isopr. 1	-	-	-	-	-	-	107.9	107.6	107.6
Isopr. 2 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	28.6	28.6	28.6
Isopr. 3 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	26.5	26.6	26.5
Ethyl. 1 <sup>c</sup>	-	-	-	-	-	-	-	65.5	65.5
Ethyl. 2 <sup>c</sup>	-	-	-	-	-	-	-	64.2	64.2

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>d</sup> Positionen sind vertauschbar.

**Tabelle 20.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **11, 12, 13, 14, 15a, 15b, 16, 17, 18** und **19** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>11</b> $\delta$	<b>12</b> $\delta$	<b>13</b> $\delta$	<b>14</b> $\delta$	<b>15a</b> $\delta$	<b>15b</b> $\delta$	<b>16</b> $\delta$	<b>17</b> $\delta$	<b>18</b> $\delta$	<b>19</b> $\delta$
1	42.7	42.7	42.7	42.7	42.7	42.7	42.7	39.9	41.0	40.5
2	72.9	72.9	72.9	72.9	72.9	72.9	72.9	68.1	67.7	68.6
3	72.8	72.8	72.8	72.8	72.8	72.8	72.8	68.1	67.7	67.5
4	22.0	22.0	21.9	22.0	22.0	22.0	22.0	26.2	31.0	34.0
5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	50.8	40.8	78.5
6	109.7	109.7	109.6	109.7	109.7	109.7	109.7	212.9	177.2	175.6
7	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	46.6	70.4	39.2
8	32.9	32.9	32.9	32.9	32.9	32.9	32.9	37.7	39.0	34.4
9	52.9	53.0	53.0	52.9	52.9	52.9	52.9	53.6	57.9	57.6
10	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	42.5	38.0	37.8
11	20.7	20.7	20.7	20.7	20.7	20.7	20.7	21.1	22.0	22.2
12	39.4	39.6	39.6	39.6	39.6	39.6	39.7	39.4	39.5	39.6
13	42.4	42.6	42.9	42.4	42.3	42.3	42.3	42.7	42.2	42.1
14	55.7	55.5	55.5	55.8	55.7	55.7	55.8	56.5	51.1	55.2
15	24.2	24.3	24.4	24.2	24.0	24.1	24.0	23.7	24.5	25.0
16	27.4	27.3	27.1	27.7	27.7	27.8	27.7	27.5	27.3	27.1
17	51.8	52.9	51.9	52.5	52.0	52.1	52.4	52.2	52.1	52.5
18	12.0	12.2	12.3	11.8	11.8	11.8	11.8	11.8	11.5	11.6
19	13.4	13.4	13.4	13.4	13.4	13.3	13.4	13.4	15.2	12.5
20	42.3	42.2	51.9	42.5	40.2	41.2	36.8	36.7	36.7	36.8
21	13.0	12.6	16.4	12.2	12.6	12.8	11.9	11.8	11.6	11.7
22	65.5	65.6	192.4	69.8	70.5	71.6	74.8	77.4	74.1	74.2
23	80.3	77.7	78.9	129.6	60.1	60.0	73.4	73.2	73.0	73.1
24	91.3	92.2	99.7	138.6	63.3	60.2	40.0	40.0	40.0	40.0
25	20.4	20.5	20.7	27.2	26.9	30.1	30.8	30.6	30.4	30.6
26 <sup>a</sup>	23.0	23.1	22.0	23.2	20.3	19.0	20.8	20.7	20.6	20.8
27 <sup>a</sup>	23.0	23.1	22.0	23.2	18.9	18.3	20.7	20.6	20.5	20.6
28	-	-	-	-	-	-	10.1	10.0	9.9	10.2
Isopr. 1	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	-	-	-
Isopr. 2 <sup>b</sup>	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	-	-	-
Isopr. 3 <sup>b</sup>	26.6	26.6	26.6	26.6	26.6	26.6	26.6	-	-	-
Ethyl. 1 <sup>c</sup>	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	-	-	-
Ethyl. 2 <sup>c</sup>	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	-	-	-

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

**Tabelle 21.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **20**, **21**, **22**, **23a**, **23b**, **24a**, **24b**, **25** und **26** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>20</b> $\delta$	<b>21</b> $\delta$	<b>22</b> $\delta$	<b>23a</b> $\delta$	<b>23b</b> $\delta$	<b>24a</b> $\delta$	<b>24b</b> $\delta$	<b>25</b> $\delta$	<b>26</b> $\delta$
1	42.7	42.7	42.7	42.7	42.6	42.6	42.7	42.7	40.2
2	72.9	72.9	72.9	73.0	73.0	72.9	73.0	73.0	68.2
3	72.8	72.8	72.8	72.9	72.9	72.8	72.8	72.9	68.3
4	22.0	22.0	21.9	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	26.3
5	45.5	45.5	45.6	45.5	45.5	45.5	45.5	45.6	50.7
6	109.7	109.6	109.5	109.7	109.8	109.7	109.7	109.7	212.2
7	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	46.7
8	32.9	32.9	32.8	33.0	33.0	33.0	33.0	33.0	37.7
9	52.9	53.0	52.9	52.9	52.9	52.9	52.9	52.9	53.6
10	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	42.5
11	20.7	20.7	20.7	20.8	20.8	20.7	20.8	20.7	21.2
12	39.4	39.6	39.6	39.6	39.5	39.6	39.6	39.6	39.3
13	42.4	42.7	43.0	42.3	42.3	42.3	42.3	42.4	42.8
14	55.7	55.6	55.5	55.7	55.7	55.6	55.7	55.7	56.5
15	24.1	24.3	24.4	24.1	24.2	24.0	24.0	24.1	23.8
16	27.4	27.3	27.1	27.5	27.8	27.5	27.3	28.1	27.9
17	51.7	53.1	51.9	52.5	52.5	52.2	52.4	52.6	52.4
18	12.0	12.2	12.3	11.9	11.9	11.9	11.9	11.7	11.7
19	13.3	13.4	13.3	13.3	13.4	13.3	13.3	13.4	13.5
20	42.1	42.0	51.9	41.2	40.6	39.8	39.5	37.0	36.9
21	13.2	12.7	16.2	12.3	12.4	12.5	12.5	12.0	12.0
22	65.4	65.4	191.6	69.4	68.2	68.4	68.9	74.2	74.0
23	85.0	82.4	81.7	133.6	134.5	60.1	60.8	71.1	71.1
24	87.7	88.6	94.9	136.7	135.6	64.5	64.3	87.2	87.1
25	71.0	71.2	70.8	77.1	76.6	74.7	74.1	76.7	76.8
26 <sup>a</sup>	29.9	29.9	29.2	29.0	29.5	26.0	25.0	18.6	18.6
27 <sup>a</sup>	30.5	30.6	29.6	28.5	29.4	24.0	25.8	28.7	28.7
Isopr. 1	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	-
Isopr. 2 <sup>b</sup>	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	28.1	28.6	28.6	-
Isopr. 3 <sup>b</sup>	26.5	26.6	26.6	26.6	26.5	26.6	26.6	26.6	-
Ethyl. 1 <sup>c</sup>	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	-
Ethyl. 2 <sup>c</sup>	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	-
2'	96.1	96.3	96.4	94.8	95.4	94.6	95.5	69.1	69.1
3'	32.0	32.0	31.8	31.9	32.5	32.0	31.6	38.0	38.0
4'	20.5	20.6	20.3	20.4	20.7	20.6	20.9	23.7	23.6
5'	25.3	25.3	25.2	25.2	25.1	25.1	25.2	28.9	28.9
6'	63.3	63.5	63.4	63.2	63.9	63.4	63.7	76.4	76.4
2'-Me	-	-	-	-	-	-	-	24.9	24.9

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

**Tabelle 22.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **27**, **28**, **29**, **30**, **31**, **32** und **33** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>27</b> $\delta$	<b>28</b> $\delta$	<b>29</b> $\delta$	<b>30</b> $\delta$	<b>31</b> $\delta$	<b>32</b> $\delta$	<b>33<sup>d</sup></b> $\delta$
1	42.7	42.7	42.8	42.7	42.6	42.7	39.8
2	72.9	72.9	72.9	73.0	72.9	72.9	67.9
3	72.8	72.8	72.8	72.9	72.8	72.8	68.0
4	21.9	21.9	21.9	22.0	22.0	22.0	26.2
5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	50.8
6	109.7	109.6	109.6	109.8	109.7	109.7	213.4
7	41.0	40.9	40.9	41.0	41.0	41.0	46.6
8	32.9	32.8	32.8	32.9	32.9	32.9	37.8
9	52.9	53.0	52.8	52.9	52.9	53.0	53.6
10	38.0	37.9	38.0	38.0	38.0	38.0	42.6
11	20.7	20.7	20.7	20.7	20.7	20.7	21.1
12	39.4	39.5	39.5	39.5	39.6	39.5	39.4
13	42.4	42.6	42.9	42.2	42.2	42.2	42.7
14	55.7	55.4	55.4	55.7	55.6	55.9	56.5
15	24.1	24.2	24.4	24.1	24.0	24.0	23.7
16	27.5	27.3	27.2	27.3	27.0	27.7	27.4
17	51.7	52.8	52.0	52.4	52.2	52.0	52.0
18	12.0	12.1	12.3	11.9	11.9	11.8	11.9
19	13.4	13.4	13.4	13.3	13.3	13.4	13.4
20	42.1	42.1	52.0	41.3	39.4	37.0	36.6
21	13.3	12.7	16.2	12.4	12.5	12.0	11.8
22	65.6	65.4	191.6	69.8	69.3	74.2	72.3
23	85.3	82.7	82.2	134.7	60.5 <sup>e</sup>	72.2	72.9
24	87.4	88.2	94.4	135.1	64.5 <sup>e</sup>	43.2	41.1
25	70.6	70.8	70.8	76.3	73.7	79.4	73.4
26 <sup>a</sup>	29.0	29.0	28.2	28.6	24.6	24.4	28.8
27 <sup>a</sup>	29.0	29.0	28.2	28.6	23.8	23.8	27.9
28	-	-	-	-	-	7.4	7.1
Isopr. 1	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	-
Isopr. 2 <sup>b</sup>	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	-
Isopr. 3 <sup>b</sup>	26.6	26.6	26.6	26.6	26.6	26.6	-
Ethyl. 1 <sup>c</sup>	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.4	-
Ethyl. 2 <sup>c</sup>	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.1	-
1°	66.5	66.5	67.0	65.1	65.4	63.9	-
2°	139.1	139.0	138.4	138.6	138.7	138.7	-
3°/7°	128.3	128.3	128.4	128.4	128.3	128.3	-
4°/6°	127.6	127.4	127.5	127.6	127.6	127.8	-
5°	127.3	127.4	127.6	127.5	127.5	127.3	-

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>d</sup> Gemessen in  $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD} = 3:1$ .

<sup>e</sup> Positionen sind vertauschbar.

**Tabelle 23.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **34**, **35**, **36**, **36a**, **37**, **39**, **40** und **41** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>34</b> $\delta$	<b>35</b> $\delta$	<b>36</b> $\delta$	<b>36a</b> $\delta$	<b>37</b> $\delta$	<b>39</b> $\delta$	<b>40<sup>f</sup></b> $\delta$	<b>41</b> $\delta$	<b>42a/42b<sup>f</sup></b> $\delta$
1	42.7	42.6	42.7	42.7	42.7	42.7	40.0	37.4	40.0
2	73.0	73.0	72.9	72.9	72.9	73.0	68.2	69.1	68.2
3	72.9	72.9	72.8	72.8	72.8	72.9	68.3	68.1	68.4
4	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	26.5	24.8	26.6
5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	51.1	51.8	51.1
6	109.7	109.8	109.7	109.7	109.7	109.7	214.1	210.7	214.4
7	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	46.9	46.5	46.9
8	33.0	33.0	33.0	32.9	33.0	33.0	38.1	37.6	38.2
9	52.9	52.9	52.9	52.9	52.9	52.9	53.9	53.6	53.9
10	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0	42.9	42.4	42.9
11	20.7	20.8	20.8	20.7	20.8	20.8	21.4	21.2	21.4
12	39.5	39.5	39.5	39.4	39.5	39.5	39.4	39.0	39.5
13	42.4	42.3	42.5	42.4	42.5	42.4	43.1	42.9	43.15/43.22
14	55.7	55.7	55.7	55.8	55.7	55.7	56.7	56.3	56.7
15	24.2	24.2	24.0	23.9	24.0	24.1	24.0	23.8	n.z.
16	27.6	27.8	27.3	27.7	27.3	27.6	28.0	27.4	n.z.
17	52.5	52.6	51.9	51.6	52.0	52.8	51.8	52.5	52.86/53.02
18	11.9	11.9	11.8	11.8	11.8	11.8	11.9	11.8	11.91/11.86
19	13.3	13.4	13.3	13.3	13.4	13.4	13.6	13.5	13.6
20	41.1	41.3/41.4	35.6	37.7	34.9	35.7	41.7	36.8	n.z.
21	11.9	12.2	11.9	14.3	11.8	11.9	12.8	12.5	13.09/n.z.
22	70.7	73.5	79.4	80.3 <sup>d</sup>	79.1	73.2 <sup>d</sup>	79.8	75.6	77.75/76.79
23	94.2	132.1	72.3	82.0 <sup>d</sup>	72.9	83.1 <sup>d</sup>	80.3	81.0	86.97/83.31
24	198.8	135.3/135.5	218.9	219.2	217.6	160.4	154.5	155.0	n.z.
25	100.4	75.9	79.1	79.0	79.2	80.2	80.4	81.1	83.20/80.93
26 <sup>a</sup>	20.8 <sup>e</sup>	26.7/28.1	24.7	26.9 <sup>e</sup>	24.8	29.3	25.7	28.1	27.58/29.07
27 <sup>a</sup>	20.6 <sup>e</sup>	26.9/28.2	22.3	14.3 <sup>e</sup>	22.3	27.8	19.3	27.9	21.76/25.02
28	-	-	-	-	-	104.8	105.0	107.9	8.80/n.z.
Isopr. 1	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6	-	-	-
Isopr. 2 <sup>b</sup>	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6	-	-	-
Isopr. 3 <sup>b</sup>	26.6	26.5	26.5	26.6	26.6	26.6	-	-	-
Ethyl. 1 <sup>c</sup>	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	-	-	-
Ethyl. 2 <sup>c</sup>	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2	-	-	-
2'	-	94.8	-	-	-	-	-	-	-
3'	-	32.4	-	-	-	-	-	-	-
4'	-	20.7	-	-	-	-	-	-	-
5'	-	25.4	-	-	-	-	-	-	-
6'	-	63.3	-	-	-	-	-	-	-
SiMe <sub>3</sub>	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
OAc-CO/ OAc-Me	-	-	-	-	-	-	-	170.7/ 21.2	-
OAc-CO/ OAc-Me	-	-	-	-	-	-	-	170.3/ 21.1	-
OAc-CO/ OAc-Me	-	-	-	-	-	-	-	170.0/ 21.0	-

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.<sup>d</sup> C-22 und C-23 vertauschbar.<sup>e</sup> Zuordnung nicht eindeutig.<sup>f</sup> Gemessen in  $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD} = 3:1$ .

**Tabelle 24.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **43, 44, 45, 46, 47, 48, 49** und **50** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>43</b> $\delta$	<b>44</b> $\delta$	<b>45</b> $\delta$	<b>46</b> $\delta$	<b>47</b> $\delta$	<b>48</b> $\delta$	<b>49</b> $\delta$	<b>50</b> $\delta$
1	37.5	37.5	37.4	40.1	38.8	36.7	38.8	41.2
2	69.1	69.0	69.0	68.4	68.9	68.4	68.9	67.8
3	68.1	68.1	68.1	68.6	67.9	78.5	67.9	67.9
4	24.8	24.7	24.8	26.8	29.2	32.2	29.2	31.2
5	51.8	51.8	51.5	51.1	42.0	68.4	42.0	41.0
6	210.5	210.6	210.6	215.7	175.1	174.2	175.1	177.5
7	46.4	46.4	46.9	42.6	70.4	40.8	70.4	70.7
8	37.5	37.5	40.4	41.4	39.1	34.3	39.1	39.2
9	53.6	53.6	46.2	46.5	58.3	57.9	58.3	58.1
10	42.4	42.4	42.0	42.7	38.3	37.9	38.4	38.2
11	21.2	21.1	20.2	20.7	22.2	22.3	22.2	22.2
12	39.2	39.2	32.5	32.1	39.4	39.4	39.4	39.7
13	42.8	42.7	41.9	47.3	42.4	42.5	42.4	42.4
14	56.5	56.5	85.0	85.0	51.3	55.3	51.3	51.3
15	23.8	23.7	31.7	32.2	24.6	25.1	24.6	24.7
16	28.0	28.1	26.8	26.8	28.0	27.6	28.1	27.5
17	52.3	52.3	47.3	47.5	52.3	52.6	52.3	52.1
18	11.8	11.8	12.7	16.0	11.6	11.6	11.6	11.7
19	13.5	13.5	13.2	13.4	15.4	12.6	15.4	15.4
20	36.9	37.0	36.8	37.1	36.9	36.9	37.1	36.8
21	12.8	12.7	12.7	12.2	12.7	12.7	12.6	11.8
22	75.7	75.5	75.5	75.1	75.6	75.6	75.5	74.4
23	74.1	72.4	72.3	73.2	74.0	74.0	72.3	73.0
24	39.8	43.3	43.4	41.9	39.8	39.8	43.3	41.3
25	30.4	72.4	72.4	73.8	30.3	30.4	72.4	73.5
26 <sup>a</sup>	20.8	28.4	28.5	28.9	20.8	20.8	28.6	28.8
27 <sup>a</sup>	20.2	26.5	26.4	28.0	20.2	20.3	26.5	27.9
28	11.0	9.0	9.0	7.4	11.0	11.0	9.0	7.1
OAc-CO/	170.6/	171.1/	171.0/	-	170.6/	170.6/	171.1/	-
OAc-Me	21.0	21.1	21.1	-	21.1	21.0	21.1	-
OAc-CO/	170.5/	170.5/	170.7/	-	170.5/	170.6/	170.5/	-
OAc-Me	21.0	21.0	21.1	-	21.0	20.9	21.1	-
OAc-CO/	170.3/	170.3/	170.3/	-	170.3/	170.3/	170.3/	-
OAc-Me	20.9	21.0	21.0	-	20.9	20.9	21.0	-
OAc-CO/	170.0/	170.0/	170.0/	-	170.0/	169.9/	170.0/	-
OAc-Me	20.8	20.8	20.8	-	20.8	20.8	20.8	-

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

**Tabelle 25.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **51**, **52**, **53**, **54**, und **55** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>51</b> $\delta$	<b>52</b> $\delta$	<b>53</b> $\delta$	<b>54</b> $\delta$	<b>55</b> $\delta$
1	42.7	42.7	42.7	42.7	42.7
2	72.9	72.9	72.9	72.9	72.9
3	72.8	72.8	72.8	72.8	72.8
4	22.0	22.0	21.9	22.0	22.0
5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5
6	109.7	109.7	109.6	109.7	109.7
7	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0
8	32.9	32.9	32.9	33.0	33.0
9	52.9	52.9	52.9	52.9	52.9
10	38.0	38.0	38.0	38.0	38.0
11	20.7	20.7	20.7	20.8	20.8
12	39.4	39.6	39.6	39.6	39.7
13	42.4	42.6	42.9	42.4	42.3
14	55.7	55.6	55.5	55.8	55.7
15	24.2	24.3	24.4	24.1	23.9
16	27.4	27.4	27.1	27.5	27.2
17	51.8	53.0	52.0	52.7	52.3
18	12.0	12.2	12.3	11.7	11.9
19	13.4	13.4	13.4	13.4	13.4
20	42.3	42.3	52.0	41.5	38.9
21	13.0	12.6	16.4	11.8	12.5
22	65.4	65.5	192.4	68.7	70.3
23	79.5	77.2	78.2	129.9	62.4
24	94.1	95.0	102.4	141.2	67.0
25	27.3	27.3	27.8	33.5	31.6
26 <sup>a</sup>	31.0	31.0	30.1	31.5	27.6
27 <sup>a</sup>	31.0	31.0	30.1	31.5	27.6
25-Me <sup>a</sup>	31.0	31.0	30.1	31.5	27.6
28	-	-	-	-	-
Isopr. 1	107.6	107.6	107.6	107.6	107.6
Isopr. 2 <sup>b</sup>	28.6	28.6	28.6	28.6	28.6
Isopr. 3 <sup>b</sup>	26.6	26.6	26.6	26.6	26.6
Ethyl. 1 <sup>c</sup>	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5
Ethyl. 2 <sup>c</sup>	64.2	64.2	64.2	64.2	64.2

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27/25-Me ohne Zuordnung.

<sup>b</sup> Methylgruppen der Isopropylidendioxygruppe sind vertauschbar.

<sup>c</sup> Methylengruppen der Ethylendioxygruppe sind vertauschbar.

**Tabelle 26.**  $^{13}\text{C}$ -Daten der Verbindungen **59**, **60**, **61**, **62**, **63**, **64**, **65** und **66** (in  $\text{CDCl}_3$ ).

Position	<b>59</b> $\delta$	<b>60</b> $\delta$	<b>61</b> $\delta$	<b>62</b> $\delta$	<b>63</b> $\delta$	<b>64</b> $\delta$	<b>65</b> $\delta$	<b>66</b> $\delta$
1	42.8	41.7	41.4	39.4	41.4	39.5	38.9	38.9
2	69.4	69.7	68.0	67.7	68.0	67.8	68.8	68.8
3	68.7	72.8	68.1	68.9	68.0	69.0	67.6	67.6
4	25.8	24.3	31.0	34.0	31.0	34.0	29.3	29.3
5	50.6	57.1	40.9	78.6	40.9	78.5	42.0	42.0
6	212.2	210.9	176.3	175.0	176.4	174.8	175.2	175.2
7	46.8	46.6	70.4	38.0	70.5	38.0	70.5	70.5
8	37.7	37.2	39.1	34.4	39.1	34.4	39.1	39.1
9	53.7	54.8	58.2	57.8	58.2	57.8	58.4	58.5
10	40.6	40.5	38.3	40.6	38.3	40.6	38.4	38.4
11	21.2	21.5	22.1	22.2	22.2	22.3	22.2	22.2
12	39.3	39.4	39.3	39.5	39.4	39.5	39.3	39.4
13	42.5	42.9	42.8	42.9	42.9	43.0	42.8	42.9
14	56.8	56.8	51.0	55.1	51.0	55.0	51.0	51.0
15	24.0	24.0	25.0	25.5	25.0	25.5	25.0	25.0
16	28.7	28.7	27.7	27.3	26.8	26.5	27.6	26.8
17	55.8	55.9	53.3	53.6	55.9	56.3	53.4	56.0
18	12.2	12.2	11.7	11.8	11.9	12.0	11.7	11.9
19	13.6	15.1	15.4	12.6	15.4	12.6	15.4	15.4
20	40.4	40.4	38.4	38.5	38.9	38.8	38.2	39.0
21	21.1	21.1	15.9	15.9	16.2	16.2	15.7	16.2
22	138.0	138.0	61.8	61.8	62.9	62.8	61.8	62.9
23	129.6	129.5	62.0	61.9	58.6	58.6	61.7	58.6
24	51.2	51.2	48.2	48.2	48.7	48.7	48.3	48.7
25	31.8	31.8	29.1	29.2	29.3	29.3	29.1	29.3
26 <sup>a</sup>	21.0	51.0	20.1	19.6	19.4	19.4	20.0	19.4
27 <sup>a</sup>	19.0	18.9	19.6	20.1	19.3	19.4	19.7	19.3
28	25.4	25.4	21.0	20.9	20.9	21.0	21.0	20.9
29	12.2	12.2	12.3	12.4	12.3	12.4	12.3	12.3
<sup>t</sup> Bu-Me	25.8	25.7	-	-	-	-	-	-
<sup>t</sup> Bu-C	18.0	18.0	-	-	-	-	-	-
PrO-CO	-	-	-	-	-	-	173.4/173.6	173.4/173.6
PrO-CH <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	27.8/27.5	27.8/27.5
PrO-Me	-	-	-	-	-	-	9.3/8.8	9.4/8.8

<sup>a</sup> Diastereotrope Methylgruppen 26/27 ohne Zuordnung.

## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit wurde von Februar 1995 bis Dezember 1998 am Institut für Pflanzenbiochemie Halle (IPB), Abteilung Naturstoffchemie, angefertigt.

Meinem Betreuer, Prof. Dr. habil. Günter Adam, möchte ich für die Überlassung des interessanten Themas, die Gewährung günstiger Arbeitsbedingungen und für die wertvollen Diskussionen und Hinweise danken.

Weiterhin gilt mein Dank Dr. Brunhilde Voigt für die Betreuung des Projektes und der damit verbundenen Hilfestellung bei der Lösung inhaltlicher Probleme.

Dr. Andrea Porzel und Marita Süße danke ich für die Anfertigung zahlreicher NMR- und IR-Spektren, Dr. Jürgen Schmidt, Ingrid Horn, Christine Kuhnt und Martina Lerbs für eine ebenso große Anzahl von MS-Spektren. Außerdem danke ich Gudrun Hahn für die Unterstützung bei der HPLC.

Dr. habil. Gernot Schneider danke ich für die hilfreichen Anregungen, Dr. Petra Fuchs und Dr. Torsten Blitzke für die Diskussion der Synthese.

Mein besonderer Dank richtet sich an Gisela Schmidt, die neben vielfältigen praktischen Arbeiten auch durch mentale Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Allen weiteren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Pflanzenbiochemie, die durch freundliche Hilfe Anteil an dieser Arbeit haben, möchte ich ebenfalls danken.

Danken möchte ich auch Frau Dr. A. Kauschmann und Herrn Dr. T. Altmann für die gewährte Gastfreundschaft am Max-Planck-Institut für molekulare Pflanzenphysiologie in Golm und die damit verbundene Möglichkeit zur Nutzung des Brassinosteroid-Mangelmutanten-Hypocotyllängen-Testes.

Besonders danken möchte ich auch meiner Freundin Anja Kitzhofer und meinen Eltern, die mich in Zeiten der Verzweiflung genauso ertragen haben wie in denen der Euphorie.

Dem Ministerium für Wissenschaft und Forschung des Landes Sachsen-Anhalt danke ich für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht zu haben.

Diese Arbeit wurde bisher an keiner anderen Institution zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Halle / Saale, den 08. Juni 1999

(Dirk Lichtblau)

# Lebenslauf

---

## Dirk, Andreas Lichtblau

geb. am 09.03.1968 in Halberstadt; ledig

Vater: Horst Lichtblau (\*20.05.1940), Bäcker und Schlosser.  
Mutter: Adelheid Lichtblau (\*10.10.1937), Bürokaufmann.  
Bruder: Uwe Lichtblau (\*13.05.1963).

## Schulausbildung

---

09/74 - 12/81 Polytechnische Oberschule "Käthe Kollwitz"  
01/82 - 07/84 Polytechnische Oberschule "John Schehr"  
09/84 - 07/86 Erweiterte Oberschule "Bertolt Brecht", Abitur 1986 (Note: sehr gut)

## Wehrdienst (NVA)

---

11/86 - 08/89 9. Nachrichtenbataillon (VGS-Kompanie) in Eggesin

## Studium

---

09/89 Immatrikulation an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle, Fachbereich Chemie  
09/89 - 03/92 Grundstudium Chemie  
03/92 Vordiplom Chemie (Note: befriedigend)  
04/92 - 09/93 Fachstudium Chemie  
11/93 - 08/94 Diplomarbeit am Institut für Pflanzenbiochemie Halle  
Thema: "Synthese chromophorer und deuterierter Derivate der Brassinosteroide 24-Epicatasteron und 24-Epibrassinolid" (Prof. Dr. G. Adam)  
08/94 **Diplom** (Note: 1.8)  
seit 02/95 Promotion am Institut für Pflanzenbiochemie Halle Thema: "Synthese von 25-Hydroxycastasteron und anderen phytohormonal wirksamen Brassinosteroiden" (Prof. Dr. G. Adam)

## Berufspraxis

---

09/86 - 10/86 Praktikum im Institut für Pflanzenzucht Langenstein/Böhnshausen, Landkreis Halberstadt  
04/90 - 08/91 Mitarbeit am Forschungsprojekt "Anwendung der HPLC und GPLC auf Polymere", MLU Halle-Wittenberg, Institut für Technische und Makromolekulare Chemie, (Dr. G. Reinhold)  
06/92 Arbeitsseminar "Innovationen in der Makromolekularen Chemie", Universität Bayreuth  
07/92 - 08/92 Praktikum am Institut für Pflanzenbiochemie Halle, Abteilung Hitzeschockproteine (Prof. L. Nover)  
08/92 - 09/92 Praktikum im Pflanzenschutzzentrum Monheim, Bayer AG, Chemische Wirkstoff-Forschung (Dr. Naumann, Dr. J. Bachmann)  
04/93 - 05/93 Praktikum "Makromolekulare Chemie", Universität Bayreuth, Chemisches Institut (Prof. M. Schmidt, Dr. G. Lattermann)

## Sonstiges

---

1991 -1994 Humanitäre Hilfe als Mitglied der Osteuropahilfe e.V. Halle: Organisation und Durchführung von mehreren Hilfstransporten für das rumänische Kinderheim "Casa Don Bosco" in Cincu  
07/95 -08/95 Stipendium des DAAD, Sprachkurs an der Universität in Brighthon, UK

Halle, den 08.06.1999