

16 β -HYDROXYCHOLESTANOL ALS BIOGENETISCHE VORSTUFE DER STEROIDSAPOGENINE*

RUDOLF TSCHESCHE und JÜRGEN LEINERT

Institut für Organische und Biochemie der Universität, Bonn

(Eingegangen 13. November 1972, Angenommen 23. Januar 1973)

Key Word Index—*Digitalis lanata*; Scrophulariaceae; steroid sapogenin biosynthesis, precursor 16 β -hydroxycholestanol.

Abstract—It has been shown that 5,6-³H,16 β -hydroxycholestanol is used in the biogenesis of the steroid sapogenins, tigogenin and gitogenin, by plants of *Digitalis lanata* but not for the formation of tomatidine by *Solanum lycopersicum*.

DIE FRAGE der Hydroxylierungsschritte in der Seitenkette und im Ring D des Cholesterols schien bei der Biogenese der Steroid Sapogenine durch mehrere Arbeiten mit Hilfe markierter Verbindungen dahingehend beantwortet zu sein, daß zunächst die Einführung einer Hydroxylgruppe an C-26 erfolgt, dann aber erst an C-16 hydroxyliert wird. Sowohl das 26-¹⁴C, 26-Hydroxycholesterol (verwertet zur Bildung von Diosgenin bei *Dioscorea floribunda*)^{1a} als auch 5,6-³H, 16 β -26-Dihydroxycholestanol (zur Tigogenin- und Gitogeninbiogenese verwendet von *Digitalis lanata* L.)^{1b} entsprachen diesem Schema. Ferner zeigten Versuche mit Gewebekulturen von *Dioscorea tokoro* Makino, ausgeführt von Tomita und Uomori,² daß 3,16,26-Trihydroxy- Δ^5 -cholesten zur Diosgeninsynthese herangezogen wird. Dagegen wurde das 23-¹⁴C, 22-Keto- bzw. 22 ξ -Hydroxycholesterol bei *D. lanata* nicht ausgenutzt.³

Offen war bisher die Prüfung, ob nicht zunächst an C-16 die Hydroxylierung erfolgen kann, daß also 16 β -Hydroxycholesterol oder das entsprechende Cholestanol-Derivat ausgenutzt werden. Es würde dann 2 verschiedene Wege geben und zwar Hydroxylierung erst an C-26 und dann im nächsten Schritt an C-16, oder es würde ebenso die umgekehrte Reihenfolge möglich sein, beide könnten auch nebeneinander ablaufen. Die Prüfung von 5,6-³H, 16 β -Hydroxycholestanol an *Digitalis lanata* ergab nach 4 Wochen eine Einbaurrate von 3,1% (3,4%) in Tigogenin und 0,5% (0,5%) in Gitogenin, bezogen auf die aufgenommene Menge Precursor. Damit ist gesichert, daß auch die 2. Möglichkeit mit primärer Hydroxylierung an C-16 beschriftet wird. Wie weit der eine oder der andere Weg bevorzugt ist, kann nicht beurteilt werden. Auffällig bleibt die relativ bescheidene Ausbeute an Gitogenin, die bei den erwähnten früheren Versuchen doppelt so hoch gefunden wurde.

EXPERIMENTELLES

Zur Synthese der markierten Verbindung wurde Diosgenin nach der Methode von Clemmensen zu 16 β -, 26-Dihydroxycholesterol reduziert,⁴ mit *p*-Toluol-sulfochlorid in trockenem Pyridin selektiv am C-26

* Mitt. XVII: "Zur Biosynthese von Steroid-Derivaten im Pflanzenreich". Mitt. XVI: Tschesche, R. und Fritz, R. Lit.^{1b}

¹ (a) BENNETT, R. D., HEFTMANN, E. und JOLY, R. A. (1970) *Phytochemistry* **9**, 349; (b) TSCHESCHE, R. und FRITZ, R. (1970) *Z. Naturforsch.* **25b**, 590.

² TOMITA, Y. und UOMORI, A. (1971) *Chem. Commun.* 284.

³ TSCHESCHE, R., HULPKE, H. und FRITZ, R. (1968) *Phytochemistry* **7**, 2021.

⁴ MARKER, R. E. und TURNER, D. L. (1941) *J. Am. Chem. Soc.* **63**, 767.

tosyliert und das Tosylat mit LiAlH_4 in abs. Äther in 16β -Hydroxycholesterol übergeführt.⁵ Es wurde in den radiochemischen Laboratorien der Farbwerke Hoechst A.G. nach der Methode von Hirschmann und Mitarb.⁶ mit vortritiiertem $\text{Pd}-\text{CaCO}_3$ -Katalysator in EtOH und Tritium-Atmosphäre zu $5,6\text{-}^3\text{H}, 16\beta$ -Hydroxy cholestanol tritiert. Nach sorgfältiger chromatographischer Reinigung wurde es in einer Menge entsprechend $1,5 \times 10^8$ Imp./min vier 7 Monate alten *Digitalis lanata* Pflanzen in üblicher Weise über die Blattoberfläche appliziert.

4 Wochen später wurde der Versuch beendet, Substanz mit $0,5 \times 10^8$ Imp./min ließ sich mit Essigester von den Blättern wieder abwaschen, 66,7% der angebotenen Menge waren aufgenommen worden. In der Cyclohexanphase fand sich noch etwa 5,1% unumgesetztes Ausgangsmaterial entsprechend $7,6 \times 10^6$ Imp./min. Damit ergibt sich ein Metabolisierung von 61,6%.

Die Aufarbeitung erfolgte in der üblichen Weise. Nach der Kokristallisation ergab sich eine Einbaurate von 3,1% (3,4%) in Tigogenin und eine solche von 0,5% (0,5%) in Gitogenin, bezogen auf die aufgenommene Menge (Metabolisierung).

Bei analogen Versuchen mit $5,6\text{-}^3\text{H}, 16\beta$ -Hydroxycholestanol an Tomaten konnte keine Bildung von radioaktiven Tomatidin nach Hydrolyse und üblicher Aufarbeitung festgestellt werden. Die gesamte Radioaktivität verblieb bei der Kokristallisation in der Mutterlauge. Dieser Befund zeigt, daß eine Deshydroxylierung an C-16 nicht wahrscheinlich ist, das so gebildete Cholestanol hätte nach unseren Erfahrungen radioaktives Tomatidin liefern müssen.⁷ Die Hydrierung der Doppelbindung Δ^5 zum trans-Derivat stellt einen relativ frühen Schritt der Biogenese dar, wenn die Analogie zu den Steroidsapogeninen erlaubt ist.⁸

Anerkennungen—Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft sehr für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Ebenso gebührt unser Dank Herrn Prof. Dr. M. Steiner, Direktor des Pharmakognostischen Instituts der Universität Bonn, für die freundliche Erlaubnis zur Benutzung des Gewächshauses.

⁵ Analog nach SCHEER, I., THOMPSON, M. J. und MOSETTIG, E. (1956) *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 4733.

⁶ HIRSCHMANN, H. und HIRSCHMANN, F. J. (1958) *Tetrahedron* **3**, 243.

⁷ TSCHESCHE, R. und HULPKE, H. (1966) *Z. Naturforsch.* **21b**, 893.

⁸ TSCHESCHE, R., FRITZ, R. und JOSST, G. (1970) *Phytochemistry* **9**, 371.