

Zur Biosynthese von Steroid-Derivaten im Pflanzenreich

11. Mitt.¹: Hydroxylierungen im Verlauf der Cardenolidbiogenese

R. TSCHESCHE, R. BECKER und R. HOMBACH

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn

(Z. Naturforschg. 23 b, 1615 [1968]; eingegangen am 20. September 1968)

In der 6. Mitteilung dieser Reihe² war gezeigt worden, daß 5 β H-Pregnan-3 β ,14 β -diol-20-on von *Digitalis*-Pflanzen zur Synthese der Cardenolide verwertet wird. Es darf vermutet werden, daß vor der Angliederung der beiden weiteren C-Atome zum Aufbau des Butenolidringes eine Hydroxylierung am C-Atom 21 notwendig ist. Zur Prüfung dieser Frage wurde 3 α T,5 β H-Pregnan-3 β ,14 β ,21-triol-20-on (**1**) hergestellt und in bekannter Weise einjährigen *Digitalis-lanata*-Pflanzen über die Blattoberfläche angeboten. Diese Verbindung wurde in folgender Weise hergestellt:

Reduktion von Digitoxigenon mit NaBT₄ zum 3 α OH-Derivat, Umlagerung über das Tosylat mit DMF zum 3 β -Formiat und anschließenden Abbau des Butenolidringes nach REICHSTEIN und Mitarbeitern³. Die Aktivität des erhaltenen **1** betrug $2,5 \cdot 10^8$ Imp/min/mg. Die behandelten Pflanzen wurden in üblicher Weise nach 4 Wochen aufgearbeitet⁴.

Die nach Hydrolyse mit Methanol/ -HCl 1 : 1 erhaltenen Aglykone wurden durch präparative Dünnschichtchromatographie an Kieselgel PF₂₅₄ (Firma E. Merck) getrennt (Laufmittel Chloroform/Methanol 9 : 1) und die radioaktiven Zonen eluiert. Sie stimmten in den *R_f*-Werten mit denen von authentischem Digitoxigenin, Digoxigenin und Gitoxigenin überein. Das erhaltene radioaktive Material wurde jeweils mit 60 mg inakti-

vem Digitoxigenin, Digoxigenin und Gitoxigenin vermischt und die Mischung bis zur konstanten Radioaktivität umkristallisiert. Nach der 2. bis 3. Kokristallisation blieb die Aktivität konstant. Von den angebotenen $3 \cdot 10^8$ Imp/min/mg waren $1,5 \cdot 10^7$ Imp/min/mg umgesetzt worden.

Damit ist gezeigt worden, daß 5 β H-Pregnan-3 β ,14 β ,21-triol-20-on zur Biogenese von Digitoxigenin und stärker hydroxylierten Cardenoliden verwertet wird. Die Verhältniszahlen in denen Digitoxigenin, Digoxigenin und Gitoxigenin entstehen, lassen vermuten, daß zunächst Digitoxigenin gebildet wird und daß dieses eine weitere Hydroxylierung erfährt. Andererseits wäre auch eine nochmalige Einführung von Hydroxyl zunächst in C-12 β oder in Gitoxigenin in C-16 β auf der Pregnanstufe denkbar, ehe der Butenolidring angegliedert wird.

Um zwischen beiden Möglichkeiten entscheiden zu können, wurde 22 ¹⁴C-Digitoxigenin (**2**) durch REFORMATZKY-Synthese⁵ aus 2 ¹⁴C-Bromessigester und 5 β H-Pregnan-3 β ,14 β ,21-triol-20-on mit einer Aktivität von $4 \cdot 10^6$ Imp/min/mg hergestellt und in erwähnter Weise *Digitalis lanata*-Pflanzen angeboten. Bei der Applikation von (**2**) mit $1,1 \cdot 10^7$ Imp/min/mg wurden 24% von den Pflanzen aufgenommen. Die in üblicher Weise erhaltenen und aufgetrennten radioaktiven Aglykonfraktionen entsprechend Digoxigenin und Gitoxigenin wurden mit 80 mg inaktivem Material vermischt und kokristallisiert. Es wurde beim Digoxigenin eine konstante spezifische Aktivität von 280 Imp/min/mg gefunden. Das entspricht einer Einbaurate von 0,84% bezogen auf aufgenommenes Digitoxigenin. Radioaktives Gitoxigenin wurde nur zu 0,1% erhalten. Dieses Ergebnis ist jedoch auf Grund der Fehlergrenze der Meßanordnung nicht eindeutig.

Dieser Befund zeigt, daß eine Hydroxylierung an C-12 auf der Cardenolidstufe möglich ist, daß aber die Einführung einer 16 β OH-Gruppe wahrscheinlich nur auf der Pregnanstufe erfolgen kann.

Wir möchten Herrn Prof. Dr. M. STEINER, Direktor des Pharmakognostischen Instituts der Bonner Universität, noch einmal herzlich für die Erlaubnis zur Benutzung des Gewächshauses danken. Ferner danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Cardenolid	spezif. Aktivität (Imp) [min/mg]	Einbaurate bezogen auf eingebauten Vorläufer [%]
Digitoxigenin	3250	1,95
Digoxigenin	1400	0,84
Gitoxigenin	920	0,55

¹ 10. Mitt.: R. TSCHESCHE, H. HULPKE u. R. FRITZ, *Phytochemistry* 7, 2021 [1968].

² R. TSCHESCHE, H. HULPKE u. H. SCHOLTEN, *Z. Naturforschg.* 22 b, 677 [1967].

³ K. MEYER u. T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* 30 II, 1508 [1947].

⁴ R. D. BENNET u. E. HEFTMANN, *Phytochemistry* 4 a, 475 [1965].

⁵ F. TURBER u. CH. SCHOLTISSEK, *Hoppe-Seyler's physiol. Chem.* 296, 87 [1954].