

Saure Hydrolyse des Acetonids **8**. 50 mg **8** wurden in 10 ml 80-proz. wässriger Essigsäure 3 Std. gekocht. Darauf wurde die Reaktionslösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand (**4**) 2 Std. mit 4 ml Acetanhydrid-Pyridin-(1:1) bei 90° acetyliert. Das nach dem Eindampfen im Vakuum erhaltene Rohprodukt wurde in Benzollösung durch Silicagel filtriert. Dabei konnten 21 mg Kristalle eluiert werden, die nach viermaligem Umkristallisieren aus Äther-Methanol bei 108° schmolzen. Nach Mischprobe, IR.-Spektrum und Dünnschichtchromatogramm liegt das *Triacetat* **5** vor.

Die Analysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der ETH (Leitung W. MANSER) ausgeführt. Frau A. VON WARTBURG und Herr CHR. CHYLEWSKI besorgten die Aufnahme der NMR.-Spektren, Herr R. DOHNER die Aufnahme der IR.-Spektren.

SUMMARY

Ultra-violet irradiation of 1-dehydro-2-formyl-testosterone acetate (**1**) in dioxane leads to a complex mixture containing the salicylic aldehyde derivative **2** as the major component. Traces of 2-methyl-4-hydroxy-17 β -acetoxy- $\Delta^{1,3,5,10}$ -estratriene have also been isolated. Acid-catalysed dienone-phenol rearrangement of **1** yields a phenol (**6**) of the same structure type as the major photoproduct **2**.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

309. Hircinol, eine antifungisch wirksame Substanz aus Knollen von *Loroglossum hircinum* (L.) RICH.

von J. Urech, B. Fechtig, J. Nüesch und E. Vischer

Herrn Prof. K. BERNHARD zum 60. Geburtstag gewidmet

(30. IX. 63)

Viele Orchideen vermögen sich nur dann zu entwickeln, wenn ihre Keimlinge und Wurzeln von Pilzen besiedelt werden. Die Pilze dringen dabei in das Wirtsgewebe ein, wobei ihre Ausbreitung jedoch begrenzt bleibt. Die Lokalisation der Infektion muss auf Abwehrreaktionen in den Orchideengeweben beruhen. In der Tat konnte in verschiedenen Arbeiten¹⁾ gezeigt werden, dass in den Knollen mehrerer Ophrydeen, z. B. *Orchis militaris* L., *Loroglossum hircinum* (L.) RICH., solche chemische Abwehrreaktionen ablaufen, welche die eindringenden Pilze aufhalten. Diese Reaktionen stehen im Zusammenhang mit der Bildung von pilzwirksamen Substanzen, deren fungistatische Wirkung *in vitro* nachgewiesen werden konnte²⁾.

BOLLER und Mitarbeiter³⁾ untersuchten vor einigen Jahren die Inhaltsstoffe der Knollen von *Orchis militaris* L., welche mit dem Pilz *Rhizoctonia repens* BERN.

¹⁾ J. NÜESCH, Defense Reactions in Orchid Bulbs. 13th Symposium of the Soc. for Gen. Microbiol. [Symbiotic Associations], held at the Royal Institution, London, April 1963, University Press Cambridge 1963, p. 335-343, und dort verzeichnete Lit.

²⁾ E. GÄUMANN, J. NÜESCH & R. H. RIMPAU, Phytopathol. Z. **38**, 274 (1960).

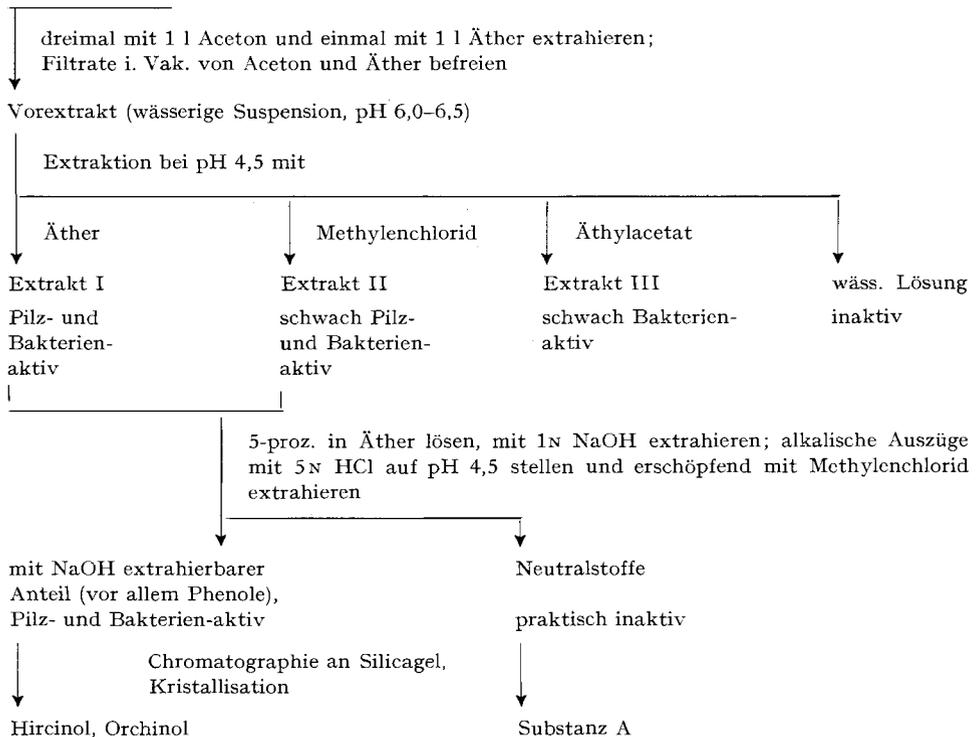
³⁾ A. BOLLER, H. CORRODI, E. GÄUMANN, E. HARDEGGER, H. KERN & N. WINTERHALDER-WILD, Helv. **40**, 1062 (1957).

infiziert worden waren. Neben biologisch inaktiven oder nur schwach aktiven Substanzen wie *p*-Hydroxybenzylalkohol⁴⁾ ⁵⁾ und Cumarin³⁾ ⁵⁾ isolierten sie das fungistatisch wirksame *Orchinol*³⁾, welches offenbar den Hauptabwehrstoff der erwähnten Orchideenart gegen *Rhizoctonia repens* darstellt. Die Konstitution des Orchinols konnte inzwischen als 2,4-Dimethoxy-7-hydroxy-9,10-dihydrophenanthren (Ia) aufgeklärt werden⁴⁾ ⁵⁾ ⁶⁾.

Dass auch *Loroglossum hircinum* das Wachstum von Wurzelpilzen zu hemmen vermag, ist schon lange erkannt worden⁷⁾ ⁸⁾. GÄUMANN und Mitarb.²⁾ machten vor drei Jahren die interessante Feststellung, dass Knollengewebe dieser Orchideenart das Wachstum von *Rhizoctonia repens* auf Agarplatten stark zu hemmen vermag, obwohl kein oder höchstens Spuren von Orchinol nachgewiesen werden konnten. Es war daher naheliegend anzunehmen, dass diese Orchidee einen oder mehrere von Orchinol verschiedene Abwehrstoffe bildet. In dieser Arbeit berichten wir über zwei neue Verbindungen, das fungistatisch wirksame *Hircinol* und die biologisch

Aufarbeitungsschema

1 kg Knollenbrei (wässrig)



⁴⁾ E. HARDEGGER, M. SCHELLENBAUM & H. CORRODI, *Helv.* **46**, 1171 (1963).

⁵⁾ M. SCHELLENBAUM, Isolierung und Konstitutionsermittlung des Orchinols, Diss. ETH Zürich, 1959.

⁶⁾ E. HARDEGGER, H. R. BILAND & H. CORRODI, *Helv.* **46**, 1354 (1963).

⁷⁾ N. BERNARD, *Rev. gén. Bot.* **16**, 405 (1904).

⁸⁾ P. NOBÉCOURT, *C. r. Séances Acad. Sci.* **177**, 1055 (1923).

unwirksame *Substanz A*, welche beide aus Knollenmaterial von *Loroglossum hircinum*, das mit dem Pilz *Rhizoctonia versicolor* MÜLLER et NÜESCH (ETH Nr. M 2982) infiziert worden war, isoliert wurden. Sie scheinen chemisch dem Orchinol nahezustehen.

Für die Gewinnung und Isolierung dieser Substanzen verwendeten wir folgende Methode: Die Knollen von *Loroglossum hircinum* wurden in ähnlicher Weise präpariert und aktiviert, wie dies für die Gewinnung von Orchinol aus *Orchis militaris* beschrieben worden ist⁹⁾. Das Knollenmaterial wurde mit *Rhizoctonia versicolor* beimpft und 10–14 Tage lang bei 24° inkubiert. Nach dieser Zeit hatte der Pilz gewöhnlich das gesamte Knollenmaterial überwuchert, was sich in einer braunen Verfärbung des Substrats äusserte. Die Knollen wurden nun im Homogenisator zu einem wässrigen Brei zerschlagen, aus welchem sich Hircinol und Substanz A nach dem Schema S. 2759 isolieren liessen.

Die im Laufe der Trennung anfallenden Extrakte und Chromatogrammfraktionen wurden systematisch mittels Papierchromatographie-Bioautographie untersucht (Testorganismen: *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida vulgaris*). Wegen der offenbar schlechten Diffusion musste die sonst übliche Kontaktzeit von 20 Min. auf 60 Min. ausgedehnt werden. Bezeichnenderweise waren die Hemmzonen auch bei sehr starker Substanzbelastung der Papierstreifen nie grösser als die UV.-mässig eruierbare Ausdehnung der Flecke, was mit der schlechten Wasserlöslichkeit und Diffusion zusammenhängen dürfte.

Am vorteilhaftesten erwiesen sich die zwei Papierchromatographie-Systeme Formamid/Cyclohexan-Benzol 1:1¹⁰⁾ und Petroläther-Benzol-Methanol-Wasser 17:33:40:10 (= BUSH B₃¹¹⁾). Während die Äthylacetat-Auszüge und die verbleibende wässrige Lösung nur noch geringe Bakterienaktivität aufwiesen, liess sich im Extrakt II, vor allem aber im Extrakt I, eine UV.-absorbierende Substanz erkennen, welche sowohl *Staph. aureus* als auch die beiden erwähnten Testpilze hemmte und deren Rf-Werte von denjenigen des Orchinols deutlich verschieden waren (s. u.).

Hircinol. – Die von uns als *Hircinol* bezeichnete neue Verbindung C₁₅H₁₄O₃ kristallisiert aus Aceton-Petroläther-Gemisch in farblosen Kristallen vom Smp. 162,5–164°. Die Ausbeuten an kristalliner Reinsubstanz variieren von 250–400 mg pro kg Knollenmaterial. Der nach ZEISEL gefundene Gehalt an O-Methylgruppen und der Gehalt an aktivem Wasserstoff nach ZEREWITINOFF sind bei der angegebenen Summenformel gut vereinbar mit der Struktur eines Desmethylorchinols (IIa oder IIb), indem sich zwei aktive Wasserstoffatome und eine Methoxylgruppe nachweisen lassen. In der Tat wird Hircinol mit Essigsäureanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur leicht in ein Diacetylderivat IIIb vom Smp. 126,5–127,5° übergeführt. Mit diesem Befund im Einklang steht auch das papierchromatographische Verhalten, besitzt doch Hircinol in allen untersuchten Systemen einen kleineren Rf-Wert als Orchinol (vgl. Tab. 1).

Falls das Hircinol ein partiell entmethyliertes Orchinol wäre, müssten die beiden Verbindungen bei der vollständigen Methylierung das gleiche 2,4,7-Trimethoxy-9,10-dihydrophenanthren (Ib) ergeben. Während aber Orchinol (Ia) mit Dimethylsulfat in Alkalilauge einheitlich den bekannten Orchinol-methyläther (Ib)^{4) 5)} liefert,

⁹⁾ E. GÄUMANN & H. KERN, *Phytopathol. Z.* 35, 347 (1959).

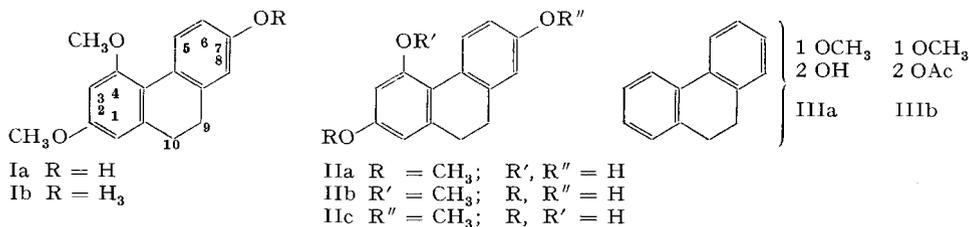
¹⁰⁾ A. ZAFFARONI, *Recent Progr. Hormone Res.* 8, 51 (1953).

¹¹⁾ I. E. BUSH, *Biochem. J.* 50, 370 (1952).

erhält man bei der analogen Methylierung von Hircinol ein Gemisch von zwei schwach polaren Substanzen, welche sich chromatographisch so ähnlich verhalten, dass sie sich nur in gewissen Dünnschichtchromatogramm-Systemen auf Silicagel knapp auftrennen liessen. Die polarere Komponente hat sich auf Grund des chromatographischen Verhaltens als identisch mit der ebenfalls aus Knollen von *L. hircinum* isolierten «Substanz A» erwiesen. Die schwächer polare Komponente verhält sich chromatographisch sehr ähnlich dem Orchinol-methyläther, ist aber nicht identisch mit diesem. Hircinol stellt deshalb keines der zwei möglichen Desmethylorchinole (IIa oder IIb) dar, und es ist auch sehr unwahrscheinlich, dass ihm die dritte denkbare Struktur IIc zukommt.

Tabelle 1. *Papierchromatographischer Vergleich von Hircinol mit Orchinol*

Rf-Wert in	Temp.	Hircinol	Orchinol
Formamid/Cyclohexan-Benzol 2:1	22°	0,13	0,40
Formamid/Cyclohexan-Benzol 1:1	22°	0,22	0,52
Formamid/Cyclohexan-Benzol 1:4	22°	0,62	0,81
Petroläther-Benzol-Methanol-Wasser 17:33:40:10 (= BUSH B ₃)	38°	0,36	0,53
Petroläther-Methanol-Wasser 100:96:4 (= BUSH A)	38°	~0	0,10



Wegen der sehr ähnlichen UV.-Spektren von Orchinol und Hircinol (Orchinol: Maxima bei 213, 280, 292 und ca. 300 m μ [minime Schulter]; Hircinol: Maxima bei 214, 274, 293 und 302 m μ) erscheint es aber als sehr wahrscheinlich, dass die zwei Substanzen wenigstens das gleiche Kohlenstoffgerüst besitzen. Eine oder mehrere Sauerstofffunktionen müssen sich beim Hircinol in einer andern als den für Orchinol gefundenen Stellungen 2,4 und 7 befinden. Mindestens eine der Hydroxylgruppen in Hircinol muss phenolisch sein, da die Verbindung aus einer Petroläther- oder Äther-Lösung mit 2N Natriumcarbonat extrahierbar ist. Die Substanz gibt übrigens einige für Phenole typische Farbreaktionen: mit Ferrichlorid-Kaliumferricyanid¹²⁾ wird eine blaue Färbung erzeugt; mit PAULY-Diazo-Reagens¹³⁾ entsteht ein ockerbräunlicher Farbstoff; beim Besprühen von Chromatogrammbanden mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid¹⁴⁾ erhält man blaue Flecke. Falls Hircinol wirklich das 9,10-Dihydrophenanthren-Gerüst besitzt, steht sicher fest, dass auch die zweite Hydroxylfunktion an einem der zwei aromatischen Ringe sitzt, da die Verbindung keine

¹²⁾ D. H. R. BARTON, *Nature* 170, 250 (1952).

¹³⁾ I. M. HAIS & K. MACEK, *Handbuch der präparativen Papierchromatographie*, Bd. I, S. 312, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1958.

¹⁴⁾ H. G. BRAY, W. V. THORPE & K. WHITE, *Biochem. J.* 46, 271 (1950).

optische Aktivität zeigt. Gegen eine Substitution in Stellung 9 und 10 spricht ferner das Kernresonanzspektrum, welches für die Integration der Signale bei $\delta^{15}) = 4,00$ (Ar-O-CH₃) und bei $\delta = 2,72$ (2 CH₂-) ein Verhältnis von 3 zu 4 Protonen ergibt. Dem Hircinol kommt daher höchst wahrscheinlich die Struktur IIIa eines Monomethoxy-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrens zu, dessen sämtliche drei funktionellen Gruppen an den aromatischen Ringen sitzen.

Antibiotische Wirkung

Wegen des relativ stark hydrophoben Charakters eignet sich der Agardiffusionstest für Hircinol (übrigens auch für Orchinol) nicht gut. Bei fortschreitender Reinigung der Substanz nimmt nämlich die spezifische Hemmwirkung im Agardiffusionstest ab. Wahrscheinlich kommt die gute Hemmwirkung in ganz rohen Extrakten durch die Anwesenheit von Lösungsvermittlern zustande.

In Tab. 2 sind die minimalen Hemm- resp. Abtötungs-Konzentrationen gegen verschiedene Bakterien und Pilze im Verdünnungstest, verglichen mit Orchinol, wiedergegeben.

Tabelle 2. Minimale Hemm- und Abtötungs-Konzentrationen¹⁶⁾ (in $\mu\text{g/ml}$)

	Hircinol		Orchinol	
	H	A	H	A
<i>Staph. aureus</i>	> 500		50	250
<i>Escherichia coli</i>	250	250	500	500
<i>Trichophyton interdigitale</i>	25	50	10	50
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	25	100	50	50
<i>Endomyces albicans</i>	50	100	50	50
<i>Epidermophyton floccosum</i>	100	500	100	100
<i>Microsporum audouini</i>	> 500		100	250
<i>Sporotrichum schenckii</i>	> 500		> 500	
<i>Aspergillus niger</i>	500	> 500	100	500

H = Hemmung

A = Abtötung

Über die Wirkung von Hircinol gegen phytopathogene Mikroorganismen wird an anderer Stelle berichtet werden¹⁷⁾.

Substanz A. – Aus dem Neutralstoffanteil lässt sich bei der Chromatographie an entaktiviertem Silicagel mit Methylenchlorid eine biologisch inaktive *Substanz A* isolieren, welche aus Aceton-Petroläther in derben farblosen Prismen vom Smp. 98–99,5° kristallisiert. Auf 10 Gewichtsteile Hircinol fallen 4–5 Gewichtsteile dieses inaktiven Nebenprodukts. Es ist, wie Orchinol und Hircinol, optisch inaktiv, analysiert auf C₁₆H₁₆O₃¹⁸⁾, d. h. isomer zu Orchinol, und enthält wie dieses 2 Methoxyl-

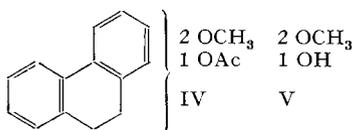
¹⁵⁾ δ : Chem. Verschiebung in ppm., auf internes Tetramethylsilan ($\delta = 0$) bezogen.

¹⁶⁾ Wir danken Herrn Dr. W. SACKMANN für die Ausführung der Verdünnungsteste und der Agardiffusionsteste.

¹⁷⁾ E. GÄUMANN, Phytopathol. Z., in Vorbereitung.

¹⁸⁾ HARDEGGER *et al.*⁴⁾ haben kürzlich eine ebenfalls bei 98° schmelzende und auf C₁₆H₁₆O₃ analysierende Substanz aus Knollengewebe von *Loroglossum hircinum* unter dem Namen *Loroglossol* isoliert. Ihr Loroglossol gibt mit unserer Substanz A keine Smp.-Depression. Die IR.-Spektren der zwei Präparate in KBr sind ebenfalls nicht unterscheidbar. Wir danken Herrn Prof. HARDEGGER, ETH Zürich, für Überlassung einer Probe von Loroglossol.

gruppen und ein aktives Wasserstoffatom. Substanz A liefert bei der Behandlung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur ein bei 108–109° schmelzendes Derivat, dessen analytische Daten (C, H, O, –O-Acetyl) gut mit der Struktur eines Dimethoxy-monoacetoxy-9,10-dihydrophenanthrens (IV) verträglich sind. Aus dem Kernresonanzspektrum der Substanz A lässt sich durch Integration der zwei Signale bei $\delta = 3,87$ und $\delta = 3,98$ (2 Ar–O–CH₃) und des Signals bei $\delta = 2,72$ (2 CH₂) ein Verhältnis von 6 Methoxylprotonen zu 4 Methylenprotonen ermitteln (vgl. Orchinol 6:4). Die nahe chemische Verwandtschaft zu Hircinol geht ferner einerseits aus seinem UV.-Spektrum hervor (Maxima bei 214, 273, 293 und 301 m μ), andererseits aus der Tatsache, dass sich eines der Methylierungsprodukte von Hircinol papierchromatographisch mit Substanz A als identisch erwies (vgl. oben). Substanz A ist deshalb wahrscheinlich, wie Orchinol, ein Dimethoxy-monohydroxy-9,10-dihydrophenanthren von der Struktur V, dessen sämtliche Substituenten an den aromatischen Ringen sitzen.



Orchinol. – Bei der chromatographischen Reinigung von Hircinol an Silicagel lassen sich in den unmittelbaren Vorfractionen von Hircinol stets minime Mengen von Orchinol nachweisen. Das Verhältnis von Orchinol zu Hircinol in infizierten Knollen von *L. hircinum* liegt bei 1:100 bis 1:50. Nach dieser Feststellung haben wir auch Knollenextrakte von *Orchis militaris*, welche mit *Rhizoctonia repens* (ETH Stamm Nr. M 32) infiziert worden waren und welche bekannterweise³⁾ als Hauptabwehrstoff Orchinol enthalten, auf allfälligen Gehalt an Hircinol untersucht. In der Tat produziert auch *O. militaris* minime Mengen von Hircinol. Der Anteil liegt schätzungsweise bei 1% der Orchinolmenge. Die Tatsache, dass einerseits *L. hircinum* neben Hircinol in untergeordnetem Masse Orchinol zu produzieren vermag, dass andererseits Knollen von *Orchis militaris* neben Orchinol auch Hircinol produzieren, ist bemerkenswert und stützt von der biogenetischen Seite her unsere aus physikalisch-chemischen Befunden abgeleitete Annahme, dass Hircinol dem Orchinol chemisch nahe verwandt sein muss.

Experimenteller Teil¹⁹⁾20)

Beimpfung der Knollen. 2,444 kg Knollen wurden mit einer weichen Bürste unter fließendem Wasser sorgfältig gereinigt, mit lauwarmem Seifenwasser gewaschen und dann im fließenden Wasser gespült. Anschliessend wurden die Knollen unter sterilen Bedingungen, in einem Impfkasten, in Scheiben geschnitten und in Portionen zu 200 g in GLAXO-Kolben abgefüllt. Diese wurden mit je 2 ml einer Schüttelkultur von *Rhizoctonia versicolor* (ETH Nr. M 2982) beimpft und

¹⁹⁾ Alle Smp. wurden im Flüssigkeitsbad aufgenommen und sind korrigiert. Die IR.-Spektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-double-beam-Instrument aufgenommen. Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Hr. Dr. PAĐOWETZ) ausgeführt. Die Kernresonanzspektren wurden auf einem VARIAN-A-60-Kernresonanzspektrographen an 0,3M Lösungen in CDCl₃ aufgenommen.

²⁰⁾ Wir danken Frau S. WEBER, Inst. f. Spez. Botanik, ETH Zürich, für die Ausführung der rohen Vorextraktionen.

zwecks Verteilung des Impfgutes kräftig geschüttelt. Der Pilz seinerseits wurde in 500-ml-ERLENMEYER-Kolben in 100 ml einer Glucose-Mineral-salz-Lösung (HELLER'sche Lösung)²¹⁾ auf einer rotierenden Schüttelmaschine mit 160 upm. bei 24° 4 Wochen angezogen. Die Beimpfung der ERLENMEYER-Kolben erfolgte mit einem Mycelstückchen aus Hefeextrakt-Schrägagarröhrchen. Die GLAXO-Kolben wurden 14 Tage bei 24° inkubiert. In dieser Zeit überwuchs der Pilz das Knollensubstrat, welches sich gänzlich braun verfärbte. Nach der Inkubation wurden die Knollen in einem Homogenisator zu einem Brei zerschlagen.

*Rohe Vorextraktion*²⁰⁾. Der Knollenbrei wurde mit 2,5 l Aceton 24 Std. bei Raumtemperatur gerührt und abgenutscht. Man wiederholte diese Aceton-Extraktion noch zweimal, rührte den verbleibenden Rückstand noch 1 Std. mit 2,5 l Äther, vereinigte alle 4 Filtrate und dampfte sie im Vakuum in einem Rotationsverdampfer in einem Bad von 30° so weit ein, bis Äther und Aceton entfernt waren. Die dunkelgefärbte wäss. Suspension wurde bis zur weiteren Aufarbeitung tiefgefroren.

Extraktive Auftrennung. 8,4 l wäss. Suspension (aus 21 kg Knollenmaterial) wurden mit 1N Salzsäure auf pH 4,5 gestellt und mit 840 g Natriumchlorid versetzt. Man schüttelte zehnmal mit 5,8 l Äther aus, wusch die Auszüge nacheinander mit 1 l 10-proz. Natriumchlorid-Lösung, trocknete sie mit Natriumsulfat und dampfte sie im Vakuum bei 30° Badtemperatur ein. Man erhielt 81,6 g dunkelbraunen öligen Äther-Extrakt.

Die wäss. Lösungen wurden vereinigt und fünfmal mit 4,7 l Methylenchlorid ausgezogen, die Auszüge analog wie oben gewaschen, getrocknet und unter gleich schonenden Bedingungen eingedampft, wobei 0,456 g Rückstand anfielen.

Die mit der Waschlösung vereinigte wäss. Phase wurde mit Natriumchlorid gesättigt, sechsmal mit Äthylacetat ausgeschüttelt und die Auszüge wie oben gewaschen, getrocknet und eingedampft. Im Eindampfungsrückstand, 6,54 g hellgelber öligere Masse, liess sich in den Papierchromatogramm-Systemen Formamid/Cyclohexan-Benzol 1:1 und Petroläther-Benzol-Methanol-Wasser 11:33:40:10 (= BUSH B₃) bei 300 μ g Auftropfung bioautographisch keine Pilzaktivität mehr feststellen. Der Äther-Extrakt, und in vermindertem Masse auch der Methylenchlorid-Extrakt, enthielten eine UV.-absorbierende Substanz mit Rf 0,22 bzw. 0,36, welche *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida vulgaris* hemmte.

Die vereinigten Äther- und Methylenchlorid-Extrakte wurden in 1,7 l Äther gelöst und viermal mit 850 ml eiskaltem 1N Natriumhydroxid ausgezogen. Sämtliche Auszüge wurden mit 850 ml Äther rückextrahiert. Die neutralgewaschenen Ätherlösungen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und hinterliessen nach dem Eindampfen im Vakuum 7,8 g biologisch inaktive Neutralstoffe (weitere Verarbeitung s. unter «Substanz A»).

Die vereinigten alkalischen Auszüge wurden mit Methylenchlorid unterschichtet und mit eiskalter 5N Salzsäure auf pH 4,5 angesäuert. Man schüttelte mehrmals mit Methylenchlorid aus, wusch die Auszüge mit 10-proz. Natriumchlorid-Lösung, trocknete sie mit Natriumsulfat, dampfte sie im Vakuum bei Raumtemperatur ein und erhielt 46,8 g amorphen Rückstand, welcher die gesamte Pilzaktivität enthielt.

Hircinol. 46,7 g obigen Materials wurden an der 30fachen Gewichtsmenge entaktiviertem Silicagel (24 Std. auf 140° erhitzt, dann durch Zugabe von 2 Gew.-% dest. H₂O entaktiviert) unter Verwendung von Methylenchlorid und Methylenchlorid-Aceton-Gemischen chromatographiert. Die Eluate mit 1% und 2% Aceton-Gehalt enthielten 9,1 g rohes Hircinol, welches, aus Aceton-Petroläther umkristallisiert, bei 162,5–164° schmolz. Ausbeute an kristallinem Material: 7,8 g²²⁾; $[\alpha]_D^{25} \pm 0^\circ$ ($c = 0,501$, CHCl₃).

C ₁₅ H ₁₄ O ₃	Ber. C 74,36	H 5,83	O 19,81	1(O)-CH ₃ 6,20	2 «H» 0,83%
(242,26)	Gef. „ 74,48	„ 5,86	„ 19,67	„ 6,22	„ 0,86%

²¹⁾ E. GÄUMANN & H. KERN, Phytopathol. Z. 36, 1 (1959).

²²⁾ In den Mutterlaugen und unmittelbaren Vorfraktionen liess sich in den oben angegebenen Systemen papierchromatographisch neben mehr Hircinol auch *Orchinol* nachweisen, welches im Vergleich zu ersterem ausser den grösseren Rf-Werten auch eine mehr rötliche Farbnuance beim Besprühen mit PAULY-Diazo-Reagens aufwies. Durch Vergleich der Fleckengrösse und -intensität auf Photokopien der Chromatogramme mit denjenigen von Verdünnungsreihen von reinem *Orchinol* konnte die Menge dieses Nebenprodukts auf 80–100 mg geschätzt werden.

UV.-Spektrum in Äthanol: λ_{max} 214 (45600); 274 (20200); 293 (12000) und 302 (11900) $m\mu$ (ϵ). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei 3,01; 3,08; 6,16; 6,31; 6,66; 6,90; 7,40; 7,52; 7,69; 7,90; 8,00; 8,14; 8,24; 8,38; 8,50; 8,64; 8,73; 9,18; 9,31; 9,65; 9,88; 10,05; 10,46; 10,90; 11,39; 11,63; 12,19; 12,70; 13,24 und 13,66 μ . – Papierchromatographisches Verhalten s. Tab. 1. Rf-Werte im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: Chloroform-Methanol (99:1): 0,31; Chloroform-Methanol (95:5): 0,55, Benzol-Methanol (95:5): 0,36 (beim Besprühen mit H_2SO_4 und Trocknen bei 120° UV.-Fluoreszenz purpur-violett).

Di-O-acetylhircinol (IIIb). 61 mg Hircinol wurden in 1 ml abs. Pyridin gelöst und mit 0,1 ml Essigsäureanhydrid über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Entfernung von überschüssigem Essigsäureanhydrid und Pyridin im Ölvakuum wurde der Rückstand in 30 ml Äther aufgenommen und mit eiskalter 1N Salzsäure, eiskalter 2-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen und eingedampft. Man erhielt 78 mg rohes Diacetylhircinol, welches, aus Aceton-Petroläther umkristallisiert, bei 126,5–127,5° schmolz. IR.-Spektrum in Methylchlorid: Banden u. a. bei 3,34 μ (aromat. =C–H, stretching); 5,65 μ (Phenolacetat-CO); 6,20; 6,25; 6,34 μ (aromat.); 8,29 μ (Phenolacetat C–O–C–).

$C_{19}H_{18}O_3$ Ber. C 69,92 H 5,56 O 24,52% Gef. C 69,86 H 5,51 O 24,47%

Behandlung von Hircinol mit Dimethylsulfat-Kaliumhydroxid. 242 mg Hircinol wurden in 2 m. Wasser zu einem Brei verrührt, im Wasserbad auf 50° erwärmt und in Abständen von 10 Min fünfmal mit einer Portion von 1 ml 4N Kaliumhydroxid und 0,16 ml Dimethylsulfat versetzt. Anschliessend wurde noch 30 Min. auf 80° erwärmt. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wurde mit 25 ml Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung mit 1N Natriumhydroxid und Wasser neutral gewaschen. Die mit Natriumsulfat getrocknete Lösung hinterliess beim Eindampfen 124 mg leicht gelblichen Neutralteil, welcher nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Bei der dünn-schichtchromatographischen Untersuchung des Neutralteils erwies sich dieser als ein Gemisch zweier Substanzen:

System		z. Vgl. Orchinol- methyläther	Rf-Werte Komponente I	Komponente II	z. Vgl. Substanz A
Cyclohexan-Äthylacetat	9:1	0,28	0,25	0,19	0,20
Petroläther-Chloroform	4:6	0,70	0,68	0,60	0,60
Benzol-Aceton	99:1	0,58	0,52	0,50	0,50
UV.-Fluoreszenz mit H_2SO_4		gelb	blau	blau	blau

Chromatographische Trennungsversuche an Aluminiumoxid waren bis jetzt erfolglos.

Substanz A. 7,8 g Neutralteil (von der Auftrennung des Äther- und Methylchlorid-Extrakts) wurden an der 30fachen Gewichtsmenge entaktiviertem Silicagel (2% H_2O enthaltend) chromatographiert. Mit Methylchlorid liess sich eine UV.-absorbierende, biologisch inaktive Substanz eluieren, welche mit H_2SO_4 im Gegensatz zu Hircinol eine violettblaue (je nach Heizbedingungen oft bräunliche) UV.-Fluoreszenz im Dünnschichtchromatogramm aufwies. Die Verbindung liess sich aus Äther, Äther-Cyclohexan oder Benzol-Cyclohexan kristallisieren: 3,3 g, Smp. 98,5–99,5°; $[\alpha]_D^{25} \pm 0^\circ$ ($c = 0,531$, $CHCl_3$). UV.-Spektrum in Äthanol: λ_{max} 214 (40000); 273 (17800); 293 (10300) und 301 (10200) $m\mu$ (ϵ). Das IR.-Spektrum in Nujol hat u. a. eine Bande bei 2,94 μ . – Substanz A weist im Papierchromatogramm folgende Rf-Werte auf: Petroläther-Methanol-Wasser (100:80:20) (= BUSH A) 38°: 0,83; Phenylcellosolve/Cyclohexan 22°: 0,90. Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: Cyclohexan-Äthylacetat (9:1): 0,20; Petroläther-Chloroform (4:6): 0,62. Die Substanz gibt mit PAULY-Diazo-Reagens eine Ockerfärbung, mit Ferrichlorid-Kaliumferricyanid und mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid eine blaue Farbreaktion.

$C_{16}H_{16}O_3$ Ber. C 74,97 H 6,29 O 18,74 2 (O)- CH_3 11,72 1 «H» 0,39%
(256,29) Gef. „ 74,70 „ 6,33 „ 18,76 „ 11,43 „ 0,40%

O-Acetyl-Substanz A (IV). 105 mg Substanz A wurden in 1 ml abs. Pyridin mit 0,2 ml Essigsäureanhydrid unter gleichen Bedingungen, wie bei Diacetylhircinol beschrieben, acetyliert und aufgearbeitet. Die 112 mg rohes Acetylierungsprodukt schmolzen nach Kristallisation aus Aceton-

Petroläther bei 108–109°. IR.-Spektrum in Methylenchlorid: frei von OH-Absorption, Banden u. a. bei 5,69 und 8,30 μ (Phenolacetat).

$C_{18}H_{18}O_4$	Ber.	C 72,46	H 6,08	O 21,45	2 (O)-CH ₃ 10,08	1 OCOCH ₃ 5,04%
(298,32)	Gef.	„ 72,62	„ 6,10	„ 21,33	„ 11,10	„ 5,08%

ZUSAMMENFASSUNG

Aus Knollen von *Loroglossum hircinum* (L.) RICH., welche mit dem Pilz *Rhizotonia versicolor* MÜLLER et NÜESCH infiziert worden sind, wird das fungistatisch wirksame *Hircinol*, $C_{18}H_{14}O_3$, in Ausbeuten von 250–400 mg pro kg Knollengewebe isoliert. Die Knollen enthalten ferner pro kg ca. 150 mg einer fungistatisch unwirksamen *Substanz A*. Beide Verbindungen scheinen dem Orchinol, einem aus *Orchis militaris* L. isolierten Pilzabwehrstoff, chemisch nahe zu stehen. Substanz A hat sich als identisch mit dem von HARDEGGER und Mitarb.⁴⁾ beschriebenen *Loroglossol* erwiesen.

Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT,
Basel, Pharmazeutische Abteilung

310. Strahlungschemie der Kohlenwasserstoffe

7. Mitteilung¹⁾

Jod in Hexan

von Hans Widmer und Tino Gäumann

(2. X. 63)

1. Einleitung. – In der vorhergehenden Arbeit dieser Reihe befassten wir uns mit der Temperaturabhängigkeit der gesättigten Produkte, die bei der Radiolyse von Hexan entstehen. Wir konnten zeigen, dass sich im Prinzip alle beobachteten gesättigten Produkte durch Abstraktions- und Kombinationsreaktionen von Radikalen bilden lassen. Es liess sich so eine hypothetische Radikalverteilung bestimmen, die für eine Bestrahlungstemperatur von -78° sogar in sich konsistent war, d. h. ausser für Wasserstoff wurde keine Abstraktion beobachtet, und die Kombination der Radikale erfolgte statistisch. Wir legten aber auch die Gründe dar, die uns trotzdem an einem reinen Radikalmechanismus bei der Radiolyse von Hexan zweifeln liessen. Im Rahmen dieser Untersuchung erweitern wir die Produktliste um die Olefine. Des weitem bestrahlten wir Iodlösungen von Hexan bei einer Reihe von Temperaturen. Jod wird im allgemeinen als Radikalfänger betrachtet: eine genügend hohe Konzentration von Jod sollte also die Bildung sämtlicher Produkte unterdrücken, die durch Radikalreaktionen entstanden sind. An ihrer Stelle sollten die entsprechenden Jodide auftreten. Es ist üblich geworden, die so unterbundenen Reaktionen als Radikalreaktionen zu bezeichnen, während für die sich auch bei Anwesenheit von Jod abspielenden Reaktionen der Ausdruck «molekular» geprägt wurde. Damit soll zum Ausdruck gebracht werden, dass diese übrigbleibenden Produkte nicht auf dem Weg über Radikalprozesse, sondern über molekulare oder

¹⁾ 6. Mitteilung: Helv. 46, 944 (1963).