

Digoxigenin wurden mit KEDDE-Reagens<sup>12)</sup> und die von Cortexon und 15 $\alpha$ -Hydroxycortexon mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens<sup>13)</sup> sichtbar gemacht. Durch Vergleich der Flecke von Produkt und Edukt und mit denen von Gemischen bekannter Zusammensetzung liess sich das Mengenverhältnis zwischen den beiden leicht bestimmen und somit der prozentuale Umsatz feststellen. Fehlergrenze höchstens  $\pm 5\%$ .

## SUMMARY

It has been shown that only a single, relatively unspecific steroid-oxydase is responsible for both the 12 $\beta$ -hydroxylation of digitoxigenin and the 15 $\alpha$ -hydroxylation of deoxycorticosterone by growing cultures of *Fusarium lini* (BOLLEY). The position of the enzymatic attack is determined by the stereochemistry of the steroid skeleton of the substrate. The transformation of digitoxigenin is much slower than that of deoxycorticosterone. The presence of deoxycorticosterone enhances the oxygenation of digitoxigenin. On the other hand the hydroxylation of deoxycorticosterone is retarded by digitoxigenin.

The rate of reaction of both substrates is dependant upon the age of the cultures used.

At low concentrations KCN enhances the enzymatic activity of *F. lini*, while it inhibits it at higher concentrations.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

<sup>12)</sup> I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).

<sup>13)</sup> L. R. AXELROD, *J. biol. Chemistry* 205, 173 (1953).

## 132. Welkstoffe und Antibiotika

27. Mitteilung<sup>1)</sup>

### Über induzierte Abwehrstoffe bei Orchideen II

von E. Hardegger, M. Schellenbaum und H. Corrodi<sup>2)</sup>

(8. IV. 63)

*Biologische Grundlagen.* Unsere chemischen Arbeiten<sup>3)</sup> über induzierte Abwehrstoffe bei Orchideen basieren auf Untersuchungen, die der französische Botaniker N. BERNARD in den Jahren 1904–1911 veröffentlichte<sup>4)</sup>. BERNARD beobachtete, dass bei der relativ seltenen, vorzugsweise in den Jura-Felsenheiden gedeihenden Orchideenart *Loroglossum* (oder *Himantoglossum*) *hircinum* (L.) RICH. regelmässig die Wurzeln und etwas weniger häufig die Knollen von einer Infektionskrankheit befallen werden. Krankheitserreger ist der Mykorrhizenpilz *Rhizoctonia repens* BERN. Die Krankheit kommt nach einiger Zeit infolge von Abwehrreaktionen der befallenen Orchideen-Gewebeteile zum Stillstand.

<sup>1)</sup> 26. Mitt., *Helv.* 46, 1065 (1963).

<sup>2)</sup> Z. Zt. in der Fa. HÄSSLE AB, Göteborg 6, Schweden.

<sup>3)</sup> Vgl. A. BOLLER, H. CORRODI, E. GÄUMANN, E. HARDEGGER, H. KERN & N. WINTERHALTER-WILD, *Helv.* 40, 1062 (1957).

<sup>4)</sup> N. BERNARD, *Rev. gén. Bot.* 16, 405 (1904); *Ann. Sc. nat., I, Bot.* [9] 9, 1 (1909), 14; 221 (1911).

Einblick in die Natur der Abwehrreaktion gaben Versuche<sup>5)</sup>, deren stark schematisiertes Prinzip darin bestand, dass zwei gesunde und zwei erkrankte Stücke von Orchideenknollen auf einem Agar- oder Salep-Nährboden dem heranwachsenden *Rhizoctonia*-Pilz ausgesetzt wurden. Von den vier Knollenstücken bestand je ein gesundes und ein erkranktes aus lebendem Gewebe; je ein Gewebestück gleicher Herkunft war vorher durch Hitze oder Kälte abgetötet worden. Wie aus der Skizze (Fig. 1) ersichtlich ist wurde vom *Rhizoctonia*-Pilz nur das tote Knollenstück einer gesunden Orchidee überwuchert. Um die drei anderen Knollenstücke bildete sich ein charakteristischer Hemmhof.

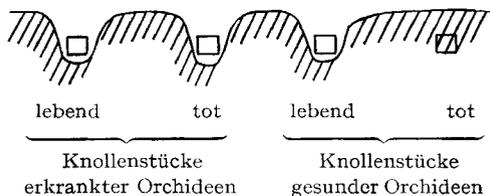


Fig. 1. Biologische Versuche mit Orchideenknollen

Aus den Versuchsergebnissen wurde geschlossen, dass Knollenstücke erkrankter Orchideen einen oder mehrere Abwehrstoffe gegen den *Rhizoctonia*-Pilz enthalten, welche im toten Knollenstück gesunder Orchideen und demzufolge auch im lebenden Knollengewebe gesunder Orchideen fehlen. Eine plausible Erklärung dafür, dass das lebende gesunde Knollenstück nicht überwuchert wurde, ergab sich aus der Annahme, dass im lebenden gesunden Gewebe, das vorerst keine Abwehrstoffe enthält, unter dem Einfluss von *Rhizoctonia*-Stoffwechselprodukten, die dem heranwachsenden Pilz im Nährboden vorausdiffundieren, die Produktion von Abwehrstoffen hervorgerufen wurde<sup>6)</sup>.

Die experimentellen Ergebnisse BERNARD's wurden von andern Forschern bestätigt<sup>7) 8)</sup>. GÄUMANN und Mitarb.<sup>6) 8)</sup> zeigten ferner u. a. dass auch die leichter beschaffbare *Orchis militaris* L. zu gleichartigen Abwehrreaktionen befähigt ist.

*Orchinol und p-Hydroxybenzylalkohol aus infizierten Knollen von Orchis militaris* L. Wir berichteten bereits<sup>3)</sup> über die Anreicherung und Isolierung von Abwehrstoffen, die in den Knollen von *Orchis militaris* L. unter dem Einfluss des Krankheitserregers *Rhizoctonia repens* BERN. entstehen. Die Abwehrstoffe waren fast ausschliesslich in den benzollöslichen «Neutralteilen» der Extrakte aus infizierten Orchideenknollen enthalten.

Neuere biologische Untersuchungen<sup>5) 9) 10)</sup> zeigten, dass nur dem von uns als Orchinol bezeichneten krist. Abwehrstoff der infizierten Orchideenknollen eine bemerkenswerte antibiotische Wirksamkeit gegenüber *Rhizoctonia* zukommt, während die Befunde über die antibiotische Aktivität der übrigen benzollöslichen

<sup>5)</sup> Vgl. dazu auch E. GÄUMANN, J. NÜESCH & H. R. RIMPAU, *Phytopath. Z.* 38, 274 (1960).

<sup>6)</sup> Vgl. E. GÄUMANN, R. BRAUN & G. BAZZIGHER, *Phytopath. Z.* 17, 36 (1950).

<sup>7)</sup> P. NOBÉCOURT, C. r. heb. Séances Acad. Sci. 177, 1055 (1923).

<sup>8)</sup> E. GÄUMANN & O. JAAG, *Experientia* 1, 21 (1945).

<sup>9)</sup> E. GÄUMANN & H. KERN, *Phytopath. Z.* 36, 1 (1959).

<sup>10)</sup> E. GÄUMANN & H. KERN, *Phytopath. Z.* 35, 347 (1959).

«Neutralkörper», d. h. des z. T. krist. Äther-Eluats und des Methanol-Eisessig-Eluats nach mehrfacher Prüfung nicht mehr bestätigt werden konnten und heute mindestens fraglich erscheinen<sup>11)</sup>.

Wir haben inzwischen auch festgestellt, dass der in geringer Menge erhaltene<sup>3)</sup>, antibiotisch fast unwirksame, niedermolekulare krist. Anteil des Äther-Eluats der benzollöslichen «Neutralkörper» noch nicht einheitlich war. Die weitere Reinigung erhöhte den Smp. des Präparats unter Verminderung des C- und H-Gehalts. Das Präparat wurde als *p*-Hydroxybenzylalkohol erkannt, der damit erstmals als Naturprodukt aufgefunden wurde. Durch Reduktion von *p*-Hydroxybenzoesäure-methylester mit Lithiumalanat hergestellter *p*-Hydroxybenzylalkohol erwies sich in allen chemischen und biologischen Eigenschaften identisch mit dem Naturprodukt, welches als Phenol erwartungsgemäss nur in geringer Menge in der «Neutralkörper»-Fraktion enthalten war, in weit grösseren Mengen dagegen aus dem in Lauge löslichen Teil der Orchideenknollen-Extrakte isoliert werden konnte. Da sich der *p*-Hydroxybenzylalkohol aus wässriger 2N Natronlauge teilweise mit Essigester ausschütteln liess, war sein Vorkommen in der Neutralkörper-Fraktion der Orchideenknollen nicht überraschend.

Orchinol (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>) und *p*-Hydroxybenzylalkohol können neben den andern Inhaltsstoffen der Orchideenknollen bis auf eine Mindestmenge von ca. 10  $\gamma$  papierchromatographisch anhand der schmutzig-grünen bzw. blauen Farbreaktion mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid nachgewiesen werden. Wesentlich empfindlicher ist der Nachweis des Orchinols auf dem Papier im UV., wo es bis 0,1  $\gamma$  mit violetter Fluoreszenz erscheint und im Dunkeln grün nachleuchtet<sup>12)</sup>.

Obwohl Orchinol als Neutralkörper isoliert wurde und das Präparat mit wässrigem und alkoholischem Eisenchlorid keine Farbreaktion zeigte, liess die für Phenole charakteristische Nachweisreaktion mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid auf die phenolische Natur der Hydroxylgruppe des Orchinols schliessen. Es ist bemerkenswert, dass sich das schwach phenolische Orchinol aus Äther, aber nicht aus Essigester mit 2N NaOH ausschütteln liess. Entsprechend unserer Aufarbeitungsmethode<sup>3)</sup> war in den Lauge-löslichen Extrakten der Orchideenknollen kein Orchinol enthalten.

Mit Hilfe der oben erwähnten Nachweismethoden<sup>1)</sup> konnte festgestellt werden, dass Knollen von *Orchis militaris*, die mit dem *Rhizoctonia*-Pilz infiziert wurden, stets Orchinol enthielten, dass aber in gesunden, nicht infizierten Knollen kein Orchinol vorkommt. Diese Feststellung wurde in einer Anzahl präparativer Ansätze bestätigt, wobei jeweils das in den Knollen enthaltene Orchinol praktisch quantitativ isoliert wurde<sup>9)</sup>. Der Orchinolgehalt künstlich infizierter Knollen lag bisher zwischen 130–500 mg/kg<sup>13)</sup>.

Es ist auffallend, dass Orchinol stets zusammen mit *p*-Hydroxybenzylalkohol gefunden wurde und dass in Knollen, die kein Orchinol enthielten, auch kein *p*-Hydroxybenzylalkohol vorkam. Orchinol und *p*-Hydroxybenzylalkohol sind also spezifische Inhaltsstoffe infizierter Knollen von *Orchis militaris* L., im Gegensatz

<sup>11)</sup> Wir danken den Prof. E. GÄUMANN und H. KERN und Frau Dr. N. WINTERHALTER-WILD für die Bereitstellung der Extrakte sowie für die Durchführung der biologischen Tests.

<sup>12)</sup> Vgl. dazu die quantitative Auswertung der beiden Nachweismethoden bei <sup>10)</sup>.

<sup>13)</sup> Vgl. dazu auch die quantitativen mikroanalytischen Bestimmungen von E. GÄUMANN & H. R. HOHL, Phytopath. Z. 38, 93 (1960).

etwa zu Cumarin, welches sowohl in gesunden wie in erkrankten Orchideen vorkommt.

Nach GÄUMANN & Mitarb.<sup>5) 9)</sup> erzeugen ausser *Orchis militaris* auch eine Auswahl anderer Orchideen Orchinol als Abwehrstoff gegen *Rhizoctonia repens* und einige andere Mikroorganismen, dagegen produziert z. B. *Loroglossum hircinum* kein oder fast kein Orchinol sondern unbekannte, bisher nur biologisch nachweisbare Abwehrstoffe. Die chemische Untersuchung dieser Orchideenart war deshalb von besonderem Interesse.

*Loroglossol aus infizierten Knollen von Loroglossum hircinum.* Die Aufarbeitung infizierter Knollenstücke von *Loroglossum hircinum*<sup>11)</sup> wurde in gleicher Weise wie bei *Orchis militaris* durchgeführt<sup>8)</sup>, doch konnte keine Anreicherung der noch unbekannt Abwehrstoffe erreicht werden. Bemerkenswerterweise erhielten wir aber aus den infizierten *Loroglossum*-Knollen anstelle von Orchinol eine neue, damit isomere, krist. Verbindung  $C_{16}H_{16}O_3$ . Die neue Verbindung, welche wir als Loroglossol bezeichnen, enthält wie Orchinol zwei Methoxyle und eine mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid nachweisbare phenolische Hydroxylgruppe. Loroglossol ist biologisch inaktiv und auf Grund der UV.- und NMR.-Spektren strukturell mit Orchinol nahe verwandt. Loroglossol-methyläther wurde bisher nur als Öl erhalten.

*Zur Konstitution des Orchinols.* Das optisch inaktive Orchinol (I)  $C_{16}H_{16}O_3$  enthält zwei Methoxyle, ein leicht veresterbares Hydroxyl, ein aromatisches System, aber kein C-Methyl<sup>3)</sup>. Die Löslichkeit in Alkali, die Farbreaktion mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid, die Herstellung des Orchinol-methyläthers (Ic) mit Dimethylsulfat und Alkali oder mit Diazomethan beweisen die phenolische Natur der freien Hydroxylgruppe. Orchinol ist gegen verd. Säure und verd. Lauge auch in der Hitze beständig. Da Orchinol (I) und Orchinol-methyläther (Ic) mit Palladium-Kohle in Alkohol nicht hydriert werden, sind keine Dreifachbindungen und wahrscheinlich auch keine olefinischen Doppelbindungen vorhanden.

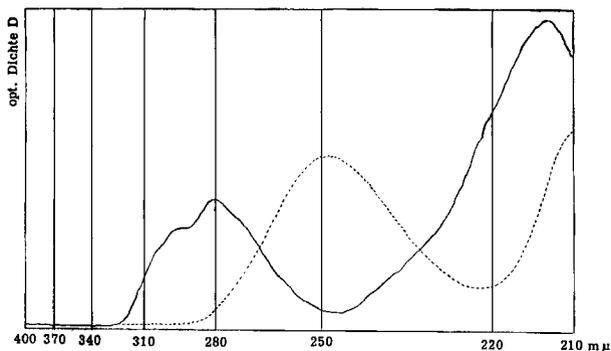


Fig. 2. UV.-Spektren in Feinsprit

— Orchinol

..... Diphenyl

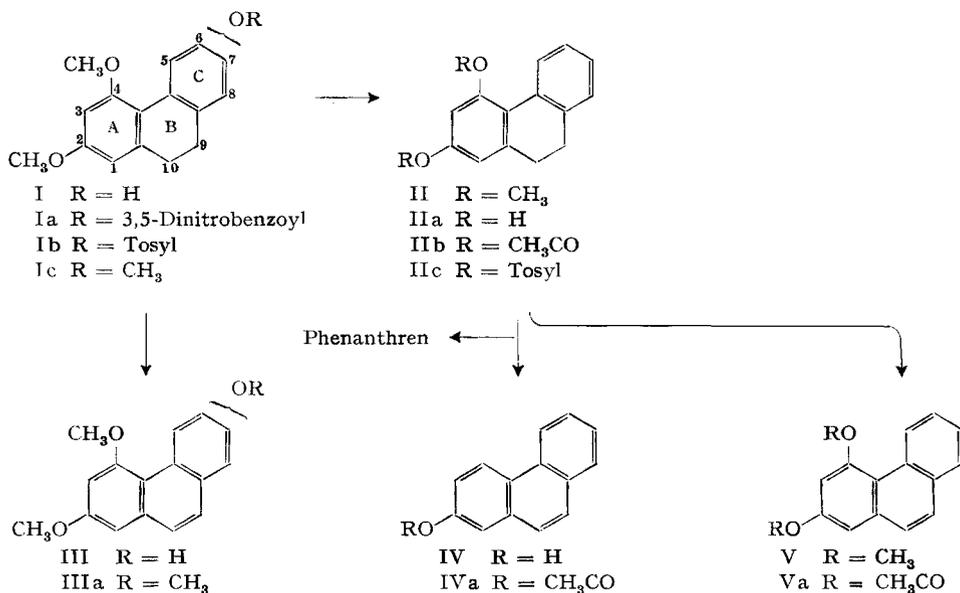
Nach Abzug der funktionellen Gruppen bleibt die Bruttoformel  $C_{14}H_{12}$  für den dem Orchinol zugrunde liegenden Kohlenwasserstoff, der insgesamt 9 Doppelbindungen resp. Ringe enthalten muss. Es gibt nur wenige Systeme  $C_{14}H_{12}$ , die notwendigerweise zwei Benzolringe enthalten müssen, um daraus Verbindungen mit den

Eigenschaften des Orchinols (I) abzuleiten. Wir haben deshalb *a priori* im Orchinol ein Derivat des 9,10-Dihydroanthracens bzw. -phenanthrens (beide  $C_{14}H_{12}$ ) vermutet. Da das UV.-Spektrum des Orchinols, wenn man es etwa  $30 m\mu$  nach kürzeren Wellen verschiebt, jenem von Diphenyl sehr ähnlich ist (s. Fig. 2), gaben wir gegenüber dem 9,10-Dihydroanthracen im Sinne einer Arbeitshypothese dem 9,10-Dihydrophenanthren als dem zugrunde liegenden Kohlenwasserstoff den Vorzug.

Orchinol (I) gab mit der äquimolaren Menge Brom in Eisessig neben unverändertem Ausgangsmaterial ein Dibromid, aber kein Monobromid. Mit etwas über 4 Äquivalenten Chlor entstanden Dichlor- und wenig Trichlor-orchinol. Wir schlossen aus den Halogenierungsversuchen, dass im Orchinol (I) die *o*,*p*- bzw. *o*,*o'*-Stellungen zum phenolischen Hydroxyl nicht substituiert sind und dass demzufolge die 3 Sauerstoff-Funktionen des Orchinols nicht im gleichen aromatischen Ring angeordnet sein können.

Nach KENNER & MURRAY<sup>14)</sup> liess sich durch katalytische Hydrierung des Tosylesters Ib mit RANEY-Nickel die phenolische Hydroxylgruppe des Orchinols durch Wasserstoff ersetzen. Das krist. Desoxyorchinol (II), der Ätherspaltung nach PREY<sup>15)</sup> unterworfen, führte zu Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa), welches als Diacetat IIb und als Ditosylat IIc charakterisiert wurde. Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa) gab als zweiwertiges Phenol mit Silberoxid keine Farbreaktion, die *o*- und *p*-Chinone kennzeichnet<sup>16)</sup>. Die beiden Methoxylgruppen liegen im Orchinol (I) also weder in *o*-, noch in *p*-Stellung zueinander.

Orchinol (I) liess sich mit Palladium-Kohle leicht zu Dehydroorchinol (III) dehydrieren. Der mit Dimethylsulfat und Alkali hergestellte Dehydro-orchinol-



<sup>14)</sup> G. W. KENNER & M. A. MURRAY, J. chem. Soc. Suppl. Issue 1, 178 (1949).

<sup>15)</sup> V. PREY, Ber. deutsch. chem. Ges. 74, 1221 (1941); 75, 350 (1942).

<sup>16)</sup> R. WILLSTÄTTER & A. PFANNENSTIEL, Ber. deutsch. chem. Ges. 37, 4744 (1904).

methyläther (IIIa) war erwartungsgemäss identisch mit dem Dehydrierungsprodukt von Orchinol-methyläther (Ic). Die beiden Dehydro-Verbindungen III und IIIa sind nicht in der Literatur beschrieben.

Ein erstes handfestes Argument zur Konstitution des Orchinols (I) gab die Dehydrierung von Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa) welche vorwiegend unter Wasserabspaltung zu Phenanthren und 2-Phenanthrol (IV) führte und damit das für Orchinol (I) postulierte Kohlenstoffgerüst bestätigte.

Die Festlegung der beiden Methoxylgruppen des Orchinols (I) gelang durch Dehydrierung von Desoxyorchinol (II) zu 2,4-Dimethoxyphenanthren (V) das mit einem nach CARNM<sup>17)</sup> synthetisierten Präparat gesicherter Konstitution identisch war. Orchinol ist also ein 2,4-Dimethoxy-x-hydroxy-9,10-dihydro-phenanthren (I).

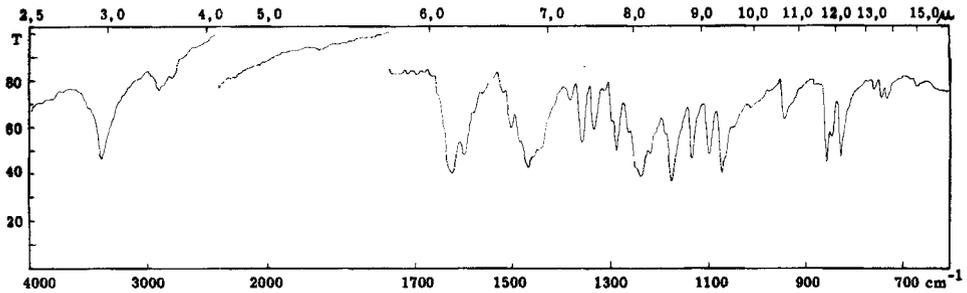


Fig. 3. IR.-Spektrum von Orchinol (in KBr)

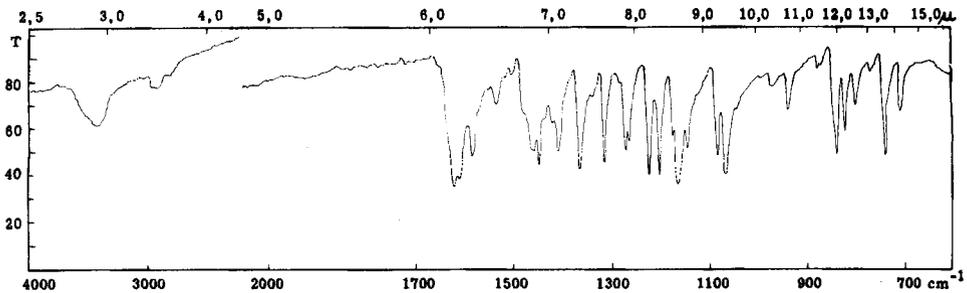


Fig. 4. IR.-Spektrum von Desoxy-dehydro-orchinol  $\equiv$  2,4-Dimethoxy-phenanthren (in KBr)

Die Lokalisierung der freien Hydroxylgruppe des Orchinols (I) bereitete grosse Schwierigkeiten. Aus bereits erwähnten Gründen kommen die C-Atome 1 und 3 im Ring A und 9 und 10 im Ring B des 2,4-Dimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrens hierfür nicht in Betracht und es bleiben nur die Stellungen 5, 6, 7, 8 im Ring C. Läge die Hydroxylgruppe des Orchinols an C5 oder C8, so wären im Ring C und nur im Ring C der beiden Verbindungen 3 benachbarte aromatische Wasserstoffatome vorhanden. Für eine derartige Anordnung von Wasserstoffen sind 2 Absorptionsbanden im Gebiet von ca. 12,5–13  $\mu$  und 13,9–14,5  $\mu$  des IR.-Spektrums als out-of-plane Deformationen charakteristisch. Wären in den erwähnten Bereichen

<sup>17)</sup> B. CARNM<sup>17)</sup>, Acta chem. scand. 9, 246 (1955).

des fingerprint-Gebiets Banden vorhanden, so dürften deswegen die Stellungen 6 und 7 für die Hydroxylgruppe nicht ausgeschlossen werden, solange nicht die genaue anderweitige Herkunft der Absorption ermittelt ist. Im Gegensatz dazu kann beim Fehlen beider Absorptionsbanden in den erwähnten IR.-Bereichen mit Sicherheit auf die Abwesenheit von 3 benachbarten Wasserstoffen geschlossen werden.

Vergleicht man die IR.-Spektren von Orchinol (I) (Fig. 3) und Desoxy-dehydro-orchinol (V) (Fig. 4) so ist klar ersichtlich, dass Orchinol nicht 3 benachbarte aromatische H-Atome enthalten kann, während im Desoxy-dehydro-orchinol diese Gruppierung in den Stellungen 5, 6, 7 und 6, 7, 8 sogar zweimal vorkommt (Banden bei 12,6  $\mu$  und 14,3  $\mu$ ).

Die Zahl der für Orchinol (I) in Frage kommenden Strukturformeln kann also auf zwei, d. h. jene des 2,4-Dimethoxy-6 oder 7-hydroxy-9,10-dihydro-phenanthrens eingeschränkt werden. Eine Entscheidung zugunsten der 6- oder 7-Stellung der Hydroxylgruppe im Orchinol soll auf synthetischem Wege herbeigeführt werden.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS (Projekte 1297, 1718, 2290) und der Fa. F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil <sup>18)</sup>

*p*-Hydroxybenzylalkohol<sup>19)</sup> als Naturprodukt. Das nochmals an Aluminiumoxid (Aktivität II) chromatographierte Äthereluat<sup>3)</sup> wurde aus Methanol-Wasser umkrist.; Smp. 120°, Mol.-Gew. 136 in Campher; Misch-Smp. mit synth. Material ohne Depression.

$C_7H_8O_2$  Ber. C 67,73 H 6,50 O 25,77% Gef. C 67,40 H 6,61 O 25,56%

*p*-Hydroxybenzylalkohol<sup>19)</sup> aus *p*-Hydroxybenzoesäure-methylester. Zu 6 g Lithiumalanat in 100 ml Äther wurden unter Rühren bei 20° tropfenweise 10 g *p*-Hydroxybenzoesäure-methylester in 150 ml Äther gegeben. Die Mischung wurde 3 Std. unter Rückfluss gekocht, unter Eiskühlung vorsichtig mit Essigester und Wasser zersetzt, mit Essigsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Nach Trocknen und Verdampfen des Äthers wurde der Rückstand aus Wasser umkrist., 2 g (25%) Nadeln, Smp. 122°.

Nachweis von Orchinol (I) mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid. 20  $\gamma$  Orchinol wurden in 20  $\mu$ l Methanol auf WHATMAN-Papier Nr. 1 gebracht und mit Methanol-Wasser 1:1 laufen gelassen. Das getrocknete Papier wurde mit 0,1-proz. 2,6-Dichlorchinon-chlorimid in Äthanol und hierauf mit ges. wss. Boraxlösung besprüht. Nach dem Trocknen erschien am Ort des Orchinols ein grau-grüner Fleck bei Rf 0,56. Mit Äthanol-Wasser 1:1, Rf 0,79.

Loroglossol. Die Herstellung der Alkohol-Äther-Extrakte<sup>11)</sup> aus infizierten Knollenfragmenten von *Loroglossum hircinum* L. und die Aufarbeitung der Extrakte erfolgte analog der Isolierung des Orchinols aus Knollen von *Orchis militaris*<sup>3)</sup>. Aus Benzol-Cyclohexan und aus Methanol, Smp. 98°.

$C_{16}H_{16}O_3$  Ber. C 74,97 H 6,27 O 18,76  $2OCH_3$  24,22% Mol.-Gew. 256  
Gef. „ 74,89 „ 6,27 „ 18,86 „ 24,32% „ 240

Loroglossol-methyläther. 50 mg Loroglossol, 0,1 ml Dimethylsulfat und 140 mg Pottasche wurden in 10 ml Aceton 22 Std. unter Rückfluss gekocht. Die erhaltene Lösung wurde vom Bodensatz abfiltriert und abgedampft. Der Rückstand (52 mg) wurde an Aluminiumoxid (Aktivität I) chromatographiert. Methylenchlorid eluierte 27 mg (51%) Methyläther, der im Kugelrohr bei 200°/0,1 Torr destillierte.

$C_{17}H_{18}O_3$  Ber. C 75,53 H 6,71% Gef. C 75,30 H 6,74%

Orchinol-3,5-dinitrobenzoat (Ia). 20 mg Orchinol (I) und 93 mg 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 1 ml abs. Pyridin wurden 30 Min. bei 20° gehalten, dann 2 Min. gekocht und nach dem Erkalten

<sup>18)</sup> Alle Smp. sind korrigiert.

<sup>19)</sup> Blaue Farbreaktion mit 2,6-Dichlorchinon-chlorimid; nach H. D. GIBBS, J. biol. Chemistry 72, 649 (1927), sollten *p*-subst. Phenole keine Farbreaktion geben.

mit 20 ml Äther versetzt. Die Lösung wurde vom ausgefallenen Dinitrobenzoesäure-anhydrid abfiltriert, mit verd. Salzsäure, ges.  $\text{KHCO}_3$ -Lösung und ges. Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der rötliche, pulverige Rückstand wurde aus Methylchlorid-Äther umkrist., Smp.  $198^\circ$  (30 mg, 85%).

$\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_8\text{N}_2$  Ber. C 61,23 H 4,03 N 6,22% Gef. C 61,26 H 4,11 N 6,15%

*Orchinol-tosylat (Ib)*. Die bei  $0^\circ$  bereitete Lösung von 500 mg Orchinol (I), 1,9 g Tosylchlorid und 5 ml Pyridin wurde 24 Std. bei  $20^\circ$  gehalten, mit 1 ml Wasser versetzt und nach 1 Std. in Chloroform aufgenommen. Eindampfen der mit verd. Salzsäure, ges.  $\text{KHCO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschenen Chloroformlösung gab 774 mg (97%) farbloses Öl, das bald vollständig kristallisierte. Das Präparat wurde aus Methanol-Wasser umkrist. und zur Analyse 48 Std. bei  $60^\circ$  im Hochvakuum getrocknet. Smp.  $101\text{--}103^\circ$ .

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{S}$  Ber. C 67,31 H 5,40% Gef. C 66,88 H 5,60%

50 mg Orchinol-tosylat wurden mit 25 mg Natriumjodid in Aceton und in Acetanhydrid 5 Std. unter Rückfluss gekocht und aus beiden Ansätzen quantitativ regeneriert.

*Orchinol (I) aus Orchinol-tosylat (Ib)*. 100 mg Orchinol-tosylat wurden mit 100 mg Lithiumalanat in 5 ml Dioxan 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Überschüssiges Lithiumalanat wurde mit Essigester und Wasser zersetzt. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure wurde das Reaktionsprodukt in Äther aufgenommen, wie üblich gewaschen und isoliert. Das aus Benzol-Cyclohexan krist. Präparat, 59 mg (95%), wurde durch den Misch-Smp. mit Orchinol identifiziert. Verseifung von Orchinol-tosylat mit verd. NaOH gab ebenfalls Orchinol.

*Orchinol-methyläther (Ic)*. — a) 300 mg Orchinol (I) in 6 ml Äther wurden mit 21 ml 2-proz. ätherischem Diazomethan 12 Std. bei  $20^\circ$  gehalten. Die Lösung wurde nach Abfiltrieren des Polymethylens eingedampft. Der krist. Methyläther wurde aus Aluminiumoxid (Aktivität II) mit Benzol eluiert; unverändertes Orchinol (213 mg) erschien mit Benzol-Äther 1:1. Der Methyläther wurde aus Cyclohexan umkrist. (51 mg, 16%, Smp.  $86\text{--}87^\circ$ ) und zur Analyse 24 Std. bei  $50^\circ$  im Hochvakuum getrocknet.

$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3$  Ber. C 75,53 H 6,71% Gef. C 75,40 H 6,93%

b) 340 mg Orchinol (I) wurden mit wenig heissem Wasser zu einer Paste angerührt, die dann bei  $100^\circ$  in 1 Std. abwechselnd portionenweise insgesamt mit 2,3 ml 4N KOH und 0,37 ml Dimethylsulfat versetzt wurde, wobei das Gemisch stets alkalisch blieb. Nach weiteren 30 Min. bei  $100^\circ$  wurde das Gemisch abgekühlt, filtriert und mit Benzol ausgeschüttelt. Der Methyläther krist. nach Eindampfen der gewaschenen Benzollösung. Das Präparat wurde wie unter a) gereinigt (298 mg, 83%, Smp.  $86\text{--}87^\circ$ ).

$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3$  Ber. C 75,53 H 6,71% Gef. C 75,37 H 6,87%

*Dibromorchinol*. Zu 128 mg (0,5 Millimol) Orchinol in 2 ml Eisessig wurden tropfenweise 80 mg (0,5 Millimol) Brom in 1 ml Eisessig gegeben, wobei unter Bromwasserstoffentwicklung sofortige Entfärbung eintrat. Der Ansatz wurde in Wasser gegossen und das krist. ausgefallene Dibromorchinol abfiltriert. Aus Tetrachlorkohlenstoff feine Nadeln, Smp.  $154^\circ$ , die zur Analyse 12 Std. bei  $120^\circ$  im Hochvakuum getrocknet wurden.

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{Br}_2$  Ber. C 46,40 H 3,41 Br 38,60% Gef. C 46,37 H 3,52 Br 38,43%

*Dichlor- und Trichlor-orchinol*. Zur Lösung von 200 mg (0,78 Millimol) Orchinol in 4 ml Chloroform und 10 ml Tetrachlorkohlenstoff wurden bei  $0^\circ$  im Verlauf von 30 Min. 9 ml 0,18M (1,62 Millimol) Chlor in Tetrachlorkohlenstoff getropft. Die gerührte Mischung enthielt nach 30 Min. kein freies Chlor mehr (Kaliumjodid-Stärkepapier). Die Mischung wurde im Vakuum eingedampft. Der krist. Rückstand (265 mg) wurde an Silicagel (MERCK) adsorbiert und mit Benzol-Chloroform entwickelt. Aus der ausgestossenen Säule wurden die sichtbaren Zonen herausgeschnitten und mit Chloroform eluiert. Dichlororchinol wanderte langsamer als Trichlororchinol.

Dichlororchinol wurde aus Benzol-Cyclohexan umkrist. und bei  $120^\circ/0,05$  Torr sublimiert, Smp. unscharf  $133\text{--}140^\circ$ , 153 mg.

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{Cl}_2$  Ber. C 59,09 H 4,33% Gef. C 58,97 H 4,43%

Trichlororchinol, ebenfalls aus Benzol-Cyclohexan umkrist. und bei  $180^\circ/0,05$  Torr sublimiert, Smp.  $198\text{--}199^\circ$ , 63 mg.

$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{Cl}_3$  Ber. C 53,43 H 3,64% Gef. C 53,13 H 3,63%

*Desoxyorchinol (II)*. 750 mg Orchinol-tosylat (Ib) wurden in 60 ml Feinsprit mit 4 g frischem, vorhydriertem RANEY-Nickel W2<sup>20</sup>) bei Normaldruck hydriert. Nachdem noch zweimal je 2 g frischer Katalysator zugegeben wurden, hatte der Ansatz in 3 Tagen 128 ml Wasserstoff aufgenommen. Der Katalysator wurde abfiltriert, das Filtrat eingengt und der teilweise krist. Rückstand in Benzol aufgenommen. Die benzolische Lösung wurde zur Entfernung des Nickeltosylats mit Wasser gewaschen und eingedampft.

Das Rohprodukt (286 mg) gab an Aluminiumoxid (Aktivität I) als erstes Benzoleluat 58 mg dünnflüssiges, angenehm riechendes Öl, als zweites Benzoleluat 228 mg krist. Desoxyorchinol; aus Pentan Nadeln, Smp. 58–59°. Das Analysenpräparat wurde 6 Std. bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{16}H_{16}O_2$  Ber. C 79,97 H 6,71% Gef. C 80,02 H 6,79%

*Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa)*. 170 mg Desoxyorchinol (II) wurden mit 510 mg Pyridinhydrochlorid 6 Std. auf 210–220° erhitzt. Die Mischung wurde in Äther und 2N Salzsäure aufgenommen und mit Wasser und 2N NaOH gewaschen. Im Äther blieben 11 mg Neutralteil als bräunliches Öl. Die in Lauge lösliche Substanz (135 mg rötlich-braunes Öl) wurde an Silicagel (MERCK) chromatographiert. Das krist. Ätherluat (117 mg) wurde aus Benzol umkrist. und zur Analyse 24 Std. bei 80° im Hochvakuum getrocknet; Nadeln, Smp. 145°.

$C_{14}H_{12}O_2$  Ber. C 79,22 H 5,70% Gef. C 79,10 H 5,84%

Je 5 mg Brenzcatechin, Hydrochinon und Desoxy-bis-desmethyl-orchinol wurden in abs. Äther und in abs. Benzol mit ca. 500 mg frisch gefälltem Silberoxid 5 Min. zum Sieden erhitzt und über Nacht stehengelassen. Brenzcatechin und Hydrochinon zeigten in Äther schon bei 20° momentan eine rote, bzw. gelbe Färbung. Desoxy-bis-dehydro-orchinol gab diese Farbreaktion nach WILLSTÄTTER<sup>16</sup>) nicht.

*Desoxy-bis-desmethyl-orchinol-diacetat (IIb)*. 100 mg Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa) wurden mit 0,2 ml Acetanhydrid in 1 ml Pyridin 12 Std. bei 20° gehalten. Beim Eingießen der Reaktionslösung in Eiswasser fiel das Diacetat krist. aus. Das Präparat wurde aus Benzol-Petroläther umkrist. und 12 Std. bei 50° im Hochvakuum getrocknet, 117 mg Nadeln, Smp. 92–93°.

$C_{18}H_{16}O_4$  Ber. C 73,96 H 5,44% Gef. C 73,90 H 5,54%

*Desoxy-bis-desmethyl-orchinol-ditosylat (IIc)*. 75 mg Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa), 665 mg Tosylchlorid und 2 ml Pyridin wurden 12 Std. bei 20° gehalten. Aufarbeitung wie jene von Orchinol-tosylat gab aus Benzol-Äther 173 mg Krist., Smp. 163°, die zur Analyse 12 Std. bei 50° im Hochvakuum getrocknet wurden.

$C_{28}H_{24}O_6S_2$  Ber. C 64,61 H 4,65% Gef. C 64,42 H 4,49%

*Dehydroorchinol (III)*. 500 mg Orchinol (I) gaben mit 75 mg 10-proz. Palladium-Kohle in 5 Min. bei 180–200° 34 ml (ber. 44 ml) Wasserstoff. Der Ansatz wurde an Aluminiumoxid (Aktivität II) chromatographiert. Benzol-Äther 1:1 eluierten 266 mg krist. Dehydroorchinol; aus Benzol, Smp. 168–170°.

$C_{16}H_{14}O_3$  Ber. C 75,57 H 5,55% Gef. C 75,52 H 5,37%

*Dehydro-orchinol-methyläther (IIIa) aus Dehydroorchinol (III)*. Aus 100 mg Dehydroorchinol mit 0,11 ml Dimethylsulfat und 0,7 ml 4N Kalilauge wie bei der Herstellung des Orchinol-methyläthers. Aus Aluminiumoxid (Aktivität II) mit Petroläther-Benzol 1:1, 94 mg, Smp. 113–114°.

$C_{17}H_{16}O_3$  Ber. C 76,10 H 6,01% Gef. C 75,93 H 5,89%

*Dehydro-orchinol-methyläther (IIIa) aus Orchinol-methyläther (Ic)*. 540 mg Orchinol-methyläther gaben mit 80 mg 10-proz. Palladium-Kohle in 5 Std. bei 210–280° 31 ml (ber. 45 ml) Wasserstoff. Das Dehydrierungsprodukt wurde zusammen mit wenig Orchinol-methyläther mit Petroläther-Benzol aus Aluminiumoxid (Aktivität II) eluiert. Umkrist. aus Petroläther-Benzol gab 340 mg Dehydro-orchinol-methyläther, Smp. 111–113°, Misch-Smp. mit Methyläther aus Dehydro-orchinol ohne Depression. Orchinol-methyläther blieb in den Mutterlaugen.

*Dehydrierung von Desoxy-bis-desmethyl-orchinol (IIa)*. 250 mg Desoxy-bis-desmethyl-orchinol gaben mit 40 mg 10-proz. Palladium-Kohle in 5 Std. bei 250–300° 6 ml (ber. 26 ml) Wasserstoff neben einer unbestimmten Menge Wasser. Der in Petroläther lösliche Teil des krist. Dehydrie-

<sup>20</sup>) R. MOZINGO, Org. Synth. 21, 15 (1941).

rungsprodukts wurde an Aluminiumoxid (Aktivität I) chromatographiert. Das Petroläthereluat wurde aus Feinsprit umkrist., 54 mg Blättchen, Smp. 94–95°. Misch-Smp. mit Phenanthren ohne Depression, UV.-Spektrum identisch mit demjenigen des Phenanthrens.

$C_{14}H_{10}$  Ber. C 94,34 H 5,66% Gef. C 94,18 H 5,70%

*Trinitrobenzol*at des vorstehenden Dehydrierungsproduktes. Aus Äthanol, Nadeln, Smp. 158°.

$C_{20}H_{13}O_6N_3$  Ber. C 61,39 H 3,35% Gef. C 61,49 H 3,53%

Der in Petroläther unlösliche Teil der krist. Dehydrierungsprodukte wurde aus Benzol-Petroläther umkrist., Smp. 163–164°. Nach UV.-Spektrum und Misch-Smp. identisch mit 2-Phenanthrol (IV).

$C_{14}H_{10}O$  Ber. C 86,60 H 5,19% Gef. C 86,39 H 5,37%

*2-Phenanthryl-acetat* (IVa). Mit Acetanhydrid in Pyridin, aus Benzol-Petroläther, Smp. 139–140°.

$C_{16}H_{12}O_2$  Ber. C 81,34 H 5,12% Gef. C 80,96 H 5,29%

*Desoxy-dehydro-orchinol* (V). 300 mg Desoxyorchinol (II) gaben mit 45 mg 10-proz. Palladium-Kohle in 1 Std. bei 260–280° 21 ml (ber. 28 ml) Wasserstoff. Der krist. Benzol-lösliche Teil des Dehydrierungsprodukts wurde aus Aluminiumoxid (Aktivität I) mit Benzol-Petroläther 1:1 eluiert und mehrmals aus Cyclohexan umkrist.; 146 mg lange Nadeln, Smp. 75–76°. Nach Misch-Smp., UV.- und IR.-Spektren identisch mit synth. 2,4-Dimethoxyphenanthren (V)<sup>17</sup>.

$C_{16}H_{14}O_2$  Ber. C 80,64 H 5,92% Gef. C 80,69 H 5,93%

*Di-O-acetyl-desoxy-dehydro-bis-desmethyl-orchinol* (Va). 107 mg Desoxy-dehydro-orchinol (V) wurden 6 Std. mit 320 mg Pyridin-hydrochlorid auf 210–220° erhitzt. Das in Chloroform lösliche, in Wasser unlösliche Reaktionsprodukt wurde mit 2N Natronlauge ausgeschüttelt. Daraus 77 mg rötlichbraunes Öl, das mit Acetanhydrid in Pyridin acetyliert wurde. Chromatographie an Silicagel (MERCK) gab ein krist. Äthereluat, das aus Benzol-Petroläther umkrist. wurde; 52 mg, Smp. 128–130°.

$C_{18}H_{14}O_4$  Ber. C 73,46 H 4,79% Gef. C 73,19 H 4,89%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Biologische Versuche zeigten, dass unter dem Einfluss gewisser Krankheits-erreger in Orchideenknollen Abwehrstoffe produziert werden. Am Beispiel der *Orchis militaris* L. und des Krankheitserregers *Rhizoctonia repens* BERN. wurde gezeigt, dass offenbar als einziger Abwehrstoff Orchinol  $C_{16}H_{16}O_3$  neben dem biologisch inaktiven *p*-Hydroxybenzylalkohol entsteht; beide Verbindungen, die sich in minimalen Mengen nachweisen liessen, waren in gesunden Pflanzen nicht enthalten. Die Orchidee *Loroglossum hircinum* L. erzeugt kein Orchinol sondern andere Abwehrstoffe gegen *Rhizoctonia repens*. Aus infizierten *Loroglossum*-Knollen konnte eine biologisch inaktive, dem Orchinol isomere und strukturell nahestehende Verbindung  $C_{16}H_{16}O_3$ , welche als Loroglossol bezeichnet wurde, isoliert werden.

Die Konstitutionsaufklärung lässt für Orchinol noch 2 Strukturformeln zu, jene des 2,4-Dimethoxy-6 oder 7-hydroxy-9,10-dihydro-phenanthrens.

Organisch-chemisches Laboratorium der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich