

Diss. ETH Nr. 8161

**Neue Metabolite  
aus Helminthosporium sacchari  
und ein synthetischer Beweis  
für die Struktur der HS-Toxine**

**ABHANDLUNG**

zur Erlangung des Titels eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von  
**CHRISTOF HILDENBRAND**  
dipl. chem. ETH  
geboren am 14. Juni 1954  
von Glattfelden / ZH

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. D. Arigoni, Referent  
Prof. Dr. W. Keller, Korreferent

Zürich 1986

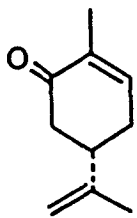
## ZUSAMMENFASSUNG

Im Zusammenhang mit der Strukturaufklärung der vom Pilz Helminthosporium sacchari, dem verursachenden Organismus für die sogenannte "eyespot-disease" beim Zuckerrohr, produzierten wirtsspezifischen HS-Toxine A<sub>2,2</sub>, B<sub>2,2</sub> und C<sub>2,2</sub> [V. Macko, W. Acklin, C. Hildenbrand, F. Weibel, D. Arigoni, *Experientia* 39, 343 (1983)] wurden folgende Arbeiten ausgeführt:

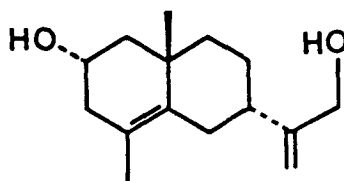
- 1) Für Vergleichszwecke wurde ausgehend von D-(+)-Galactose in acht Stufen Benzyl-5-O-( $\beta$ -D-galactofuranosyl)- $\beta$ -D-galactofuranosid synthetisiert.
- 2) Saure Hydrolyse des Gemischs der natürlichen HS-Toxine ergab ein Produktgemisch, aus welchem die Aglycone A und B in reiner Form isoliert werden konnten. Das Aglycon C wurde nicht gefunden.
- 3) In einer elf Stufen umfassenden Synthese wurde ausgehend von (+)-Carvon (87) das Eudesmangesquiterpendiol 6 mit bekannter relativer und absoluter Konfiguration hergestellt. Ein spektroskopischer Vergleich dieses Diols mit dem natürlichen Aglycon A belegte deren skalare Identität. Die unterschiedlichen chiroptischen Eigenschaften der beiden Produkte ordneten dem natürlichen Aglycon A die Struktur 173 zu.
- 4) Das natürliche Aglycon A (173) wurde in einer gegenüber der antipodalen Reihe in einzelnen Stufen leicht abgeänderten Synthese ausgehend von (-)-Carvon hergestellt.
- 5) Dass das durch Struktur 210 dargestellte Produkt, welches ausgehend von (-)-10-Epi- $\alpha$ -cyperon in sechs Stufen zugänglich war, dem Aglycon C des HS-Toxins C<sub>2,2</sub> entsprach, konnte durch Vergleich der spektroskopischen Daten (besonders <sup>13</sup>C-NMR) der zwei Verbindungen untermauert werden.
- 6) Genauere Untersuchungen der Kulturlösung von H. sacchari führten zur Isolierung von 21 nicht toxischen Glycosiden, welche anhand der spektroskopischen Daten als die niedrigen Homologen der drei HS-Toxine erkannt wurden. Eine weitere Substanz aus dem Kulturfiltrat wurde als ein bis- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-Derivat des HS-Toxins C<sub>2,2</sub> erkannt und stellt offensichtlich eine latente Form dar, aus welcher durch Einwirkung von  $\alpha$ -Glucosidase das entsprechende Toxin freigesetzt werden kann.
- 7) Umsatz des synthetischen Aglycons A (173) mit dem Gemisch der Ortho-

ester 76/77 ergab nach Desacetylierung der gebildeten Produkte die beiden Homologen  $A_{1,1}$  und  $A_{1,0}$  des HS-Toxins  $A_{2,2}$ . Entsprechende Versuche mit Diol 6 ergaben die Isomeren der unnatürlichen Reihe.

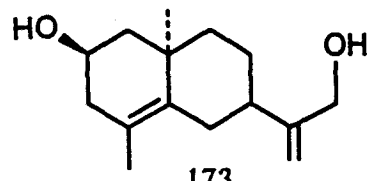
8) Aus den Extrakten von *H. sacchari* konnten die fünf Sesterterpen 34, 35, 36, 37 und 40 isoliert werden, wobei Struktur 40 ein Diacetat des eigentlichen Naturstoffs darstellt. Zwei Terpene, 34 und 36, sind mit bereits bekannten Verbindungen der Ophiobolan-Reihe identisch. Die Struktur der damit biogenetisch verwandten Verbindungen 35, 37 und 40 sind auf spektroskopischem Wege abgeleitet worden. Weiter wurden aus denselben Extrakten die zwei Sesquiterpene 42 und 51 isoliert. Die Struktur von 42 ist durch eine Röntgenspektalanalyse gesichert, diejenige von 51 durch spektroskopischen Vergleich abgeleitet.



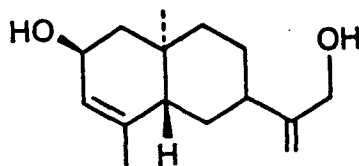
87



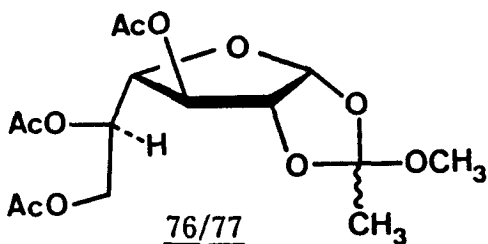
6



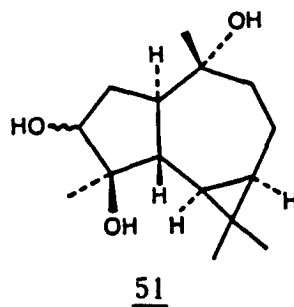
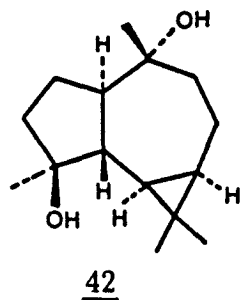
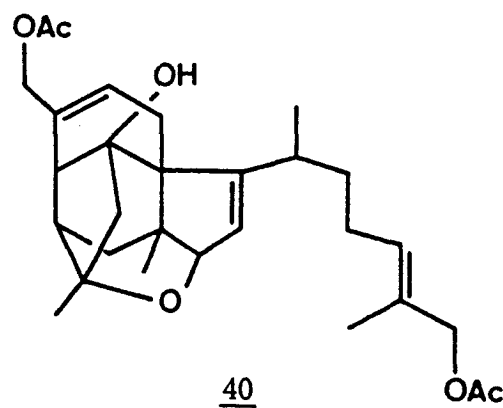
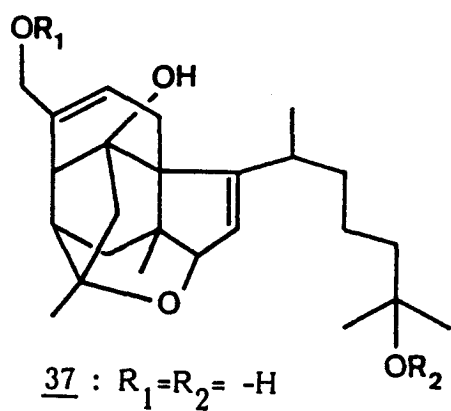
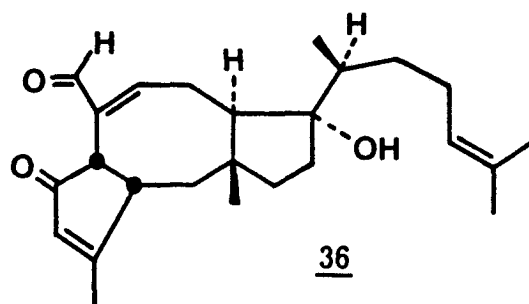
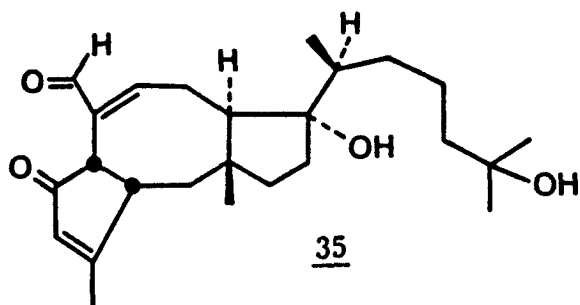
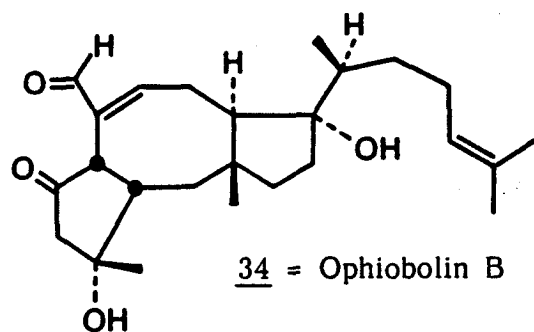
173



210



76/77



### SUMMARY

During the course of the structure elucidation of the host specific toxins A<sub>2,2</sub>, B<sub>2,2</sub> and C<sub>2,2</sub> [V. Macko, W. Acklin, C. Hildenbrand, F. Weibel, D. Arigoni, *Experientia* 39, 343 (1983)] produced by the fungus Helminthosporium sacchari, which is the causal organism of the "eyespot disease" in sugar cane, the following work was carried out:

- 1) For comparison benzyl 5-O-( $\beta$ -D-galactofuranosyl)- $\beta$ -D-galactofuranoside was synthesized in 8 steps from (+)-galactose.
- 2) Acid hydrolysis of a mixture of the natural HS-toxins gave a mixture of products, from which aglycone A and B were isolated in pure form. Aglycone C was not found.
- 3) The eudesmanesquiterpenediol 6 was prepared with known relative and absolute configuration by an 11 step synthesis starting from (+)-carvone (87). Spectroscopic comparison of the synthesized diol with natural aglycone A proved their scalar identity. From the different chiroptical properties of both products, the natural aglycone was assigned structure 173.
- 4) The natural aglycone A was prepared from (-)-carvone. Some of the steps used in this synthesis were different to those used in the synthesis of the antipode.
- 5) A comparison of the spectroscopical data (in particular <sup>13</sup>C-NMR) of the HS-toxin C<sub>2,2</sub> with a product represented by structure 210, which was prepared in 6 steps from (-)-10-Epi- $\alpha$ -cyperone, suggests that the synthetic product represents aglycone C.
- 6) Thorough investigation of the culture filtrate of *H. sacchari* led to the isolation of 21 non-toxic glycosides. They were identified as lower homologues of the three HS-toxins by their spectroscopical properties. Another substance which was isolated from the culture filtrate was identified as a bis- $\alpha$ -D-glucopyranosyl derivative of the HS-toxin C<sub>2,2</sub>, and is obviously a latent form, as treatment with  $\alpha$ -glucosidase led to the corresponding HS-toxin.
- 7) Treatment of the synthetic aglycone A (173) with a mixture of the orthoesters 76/77 gave, after desacetylation of the formed products, the two

HS-toxin A<sub>2,2</sub> homologues A<sub>1,1</sub> and A<sub>1,0</sub>. Analogous experiments with the diol 6 gave the isomers of the unnatural series.

8) The 5 sesterterpenes 34, 35, 36, 37 and 40 were isolated from the extracts of *H. sacchari*. The product with structure 40 represents a diacetate of the original natural product. Two of the terpenes, 34 and 36, are identical with the known compounds of the ophiobolanes. Biogenetically related to these products are the compounds 35, 37 and 40, the structure of which were determined by spectroscopical methods. The two sesquiterpenes, 42 and 51, were also isolated from the same extracts. The structure of 42 was proven by X-ray analysis, whereas the structure of 51 was deduced by comparison of spectroscopic data.

