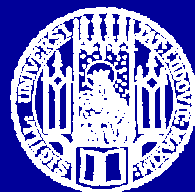


„Von Farbstoffen und Fungiziden – Bemerkenswertes aus der Pilzchemie“



Wolfgang Steglich
Department Chemie
Ludwig-Maximilians-Universität München

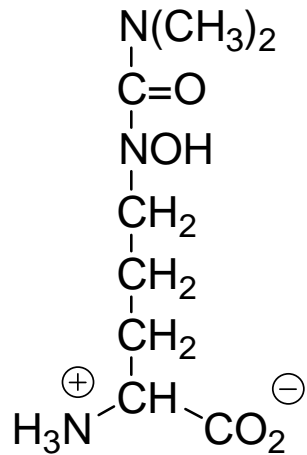
Lyophyllum connatum (Weißer Rasling)



Farbreaktion

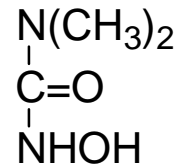
Fleisch färbt sich beim Beträufeln mit wässriger FeCl_3 -Lösung violett.

Inhaltstoffe des Weißen Raslings



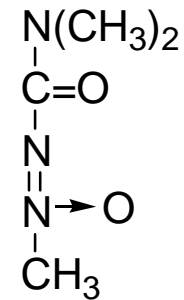
Connatin

500 mg



N-Hydroxy-*N'*,*N'*-
dimethylharnstoff

200 mg

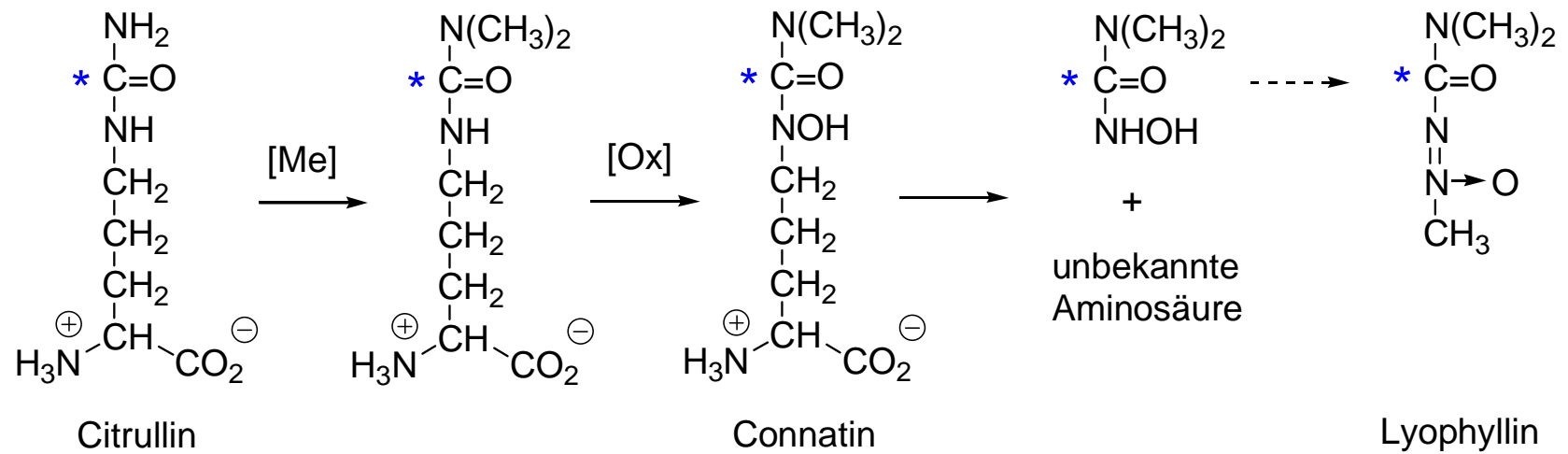


Lyophyllin

400 mg

aus 1 kg frischen Pilzen

Biosynthese von Connatin

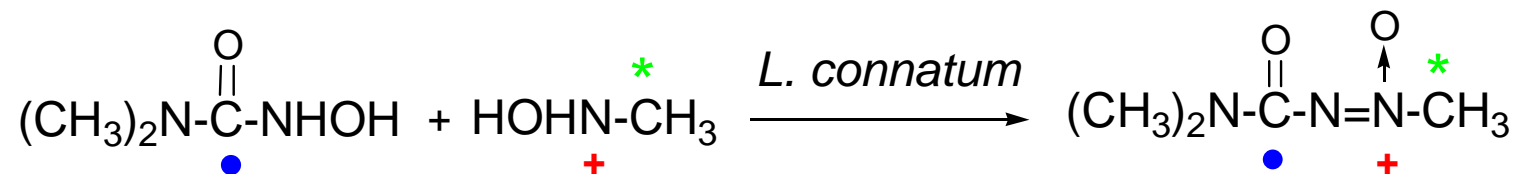


Georg Böger 1990

Dr. Yang Ye beim Verimpfen markierter Vorläufer
an den Weißen Rasling



Biosynthese von Lyophyllin



Einbaurrate: ● 50%

* 95%

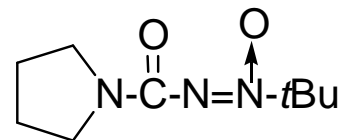
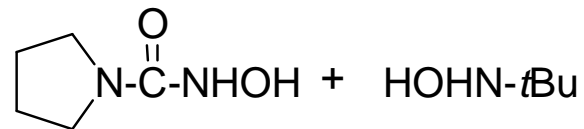
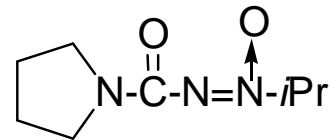
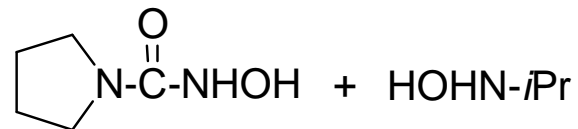
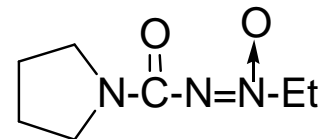
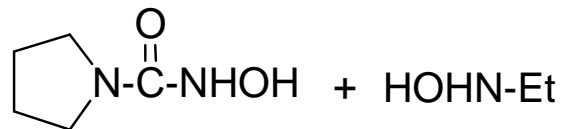
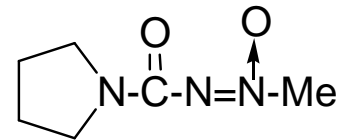
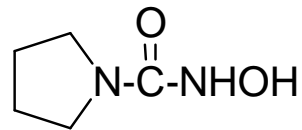
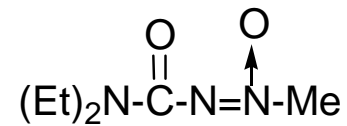
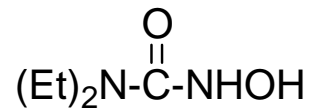
+ 59%

Y. Ye, K. Aulinger, N. Arnold, W. Spahl, W. St., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8013

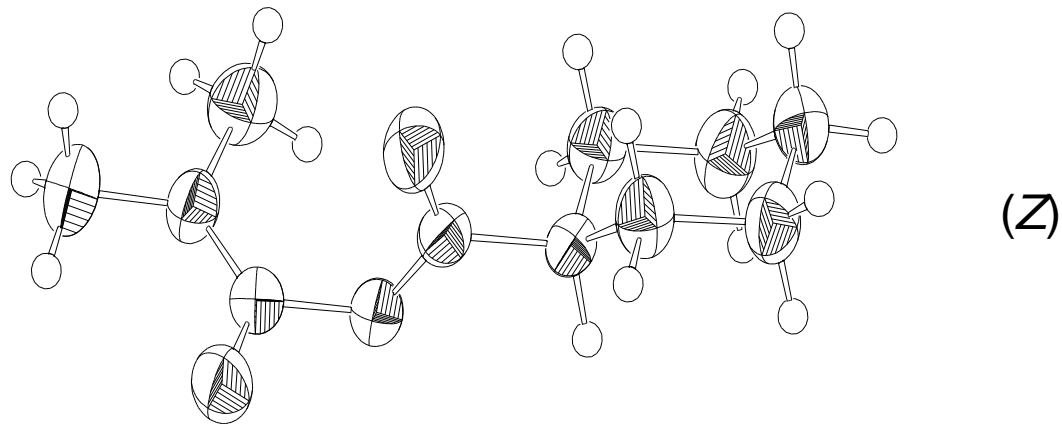
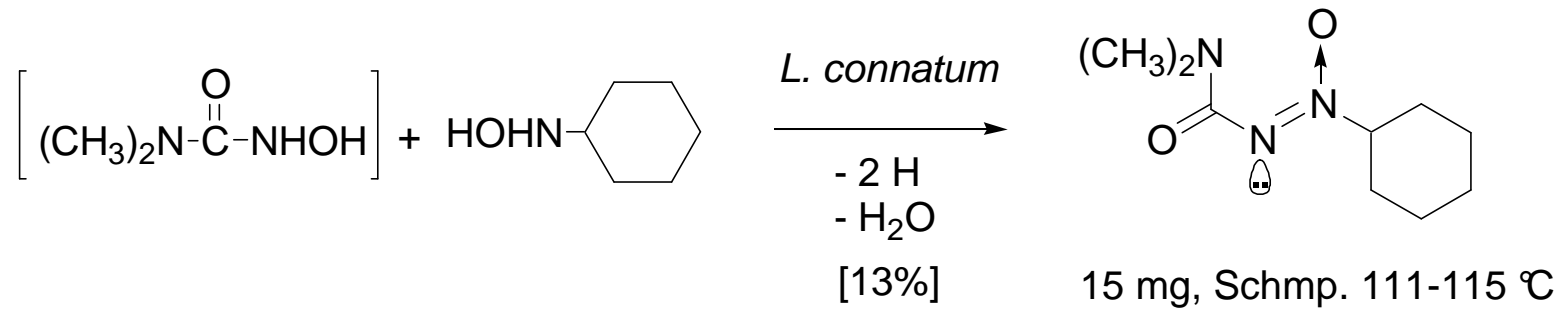
Verfütterung unnatürlicher Vorläufer an *Lyophyllum connatum*

Vorläufer

Unnatürliches Lyophyllin

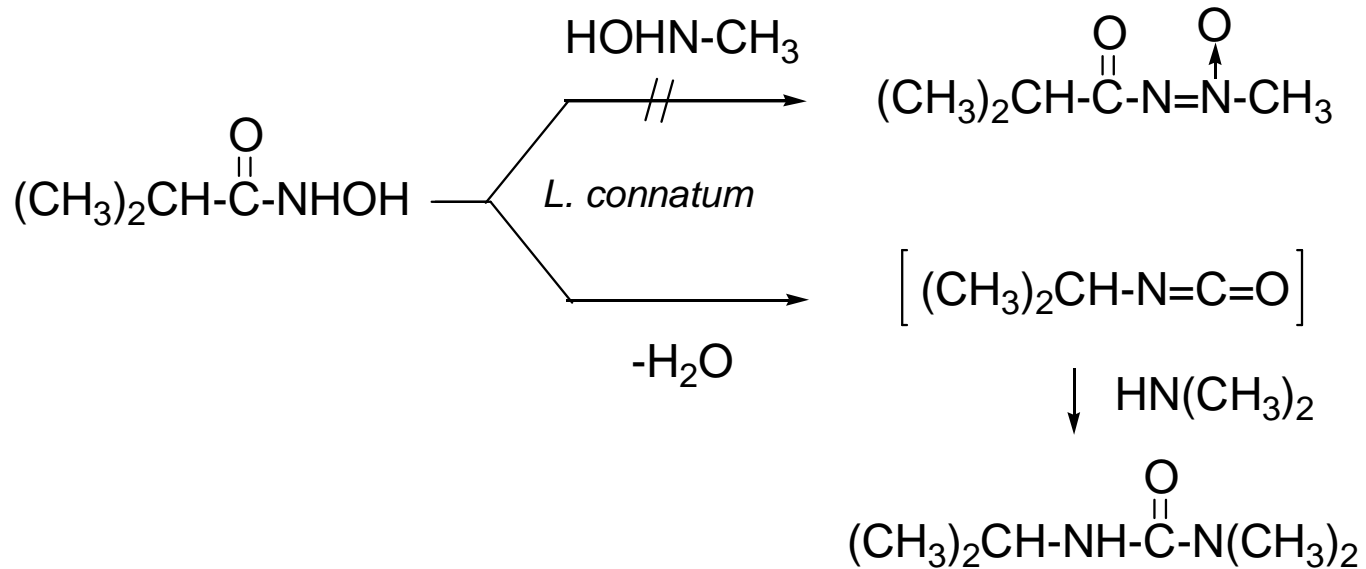


Verfütterung von *N*-Cyclohexylhydroxylamin an *L. connatum* und Bestimmung der Konfiguration des so erhaltenen Azoxycarboxamids durch Röntgenstrukturanalyse

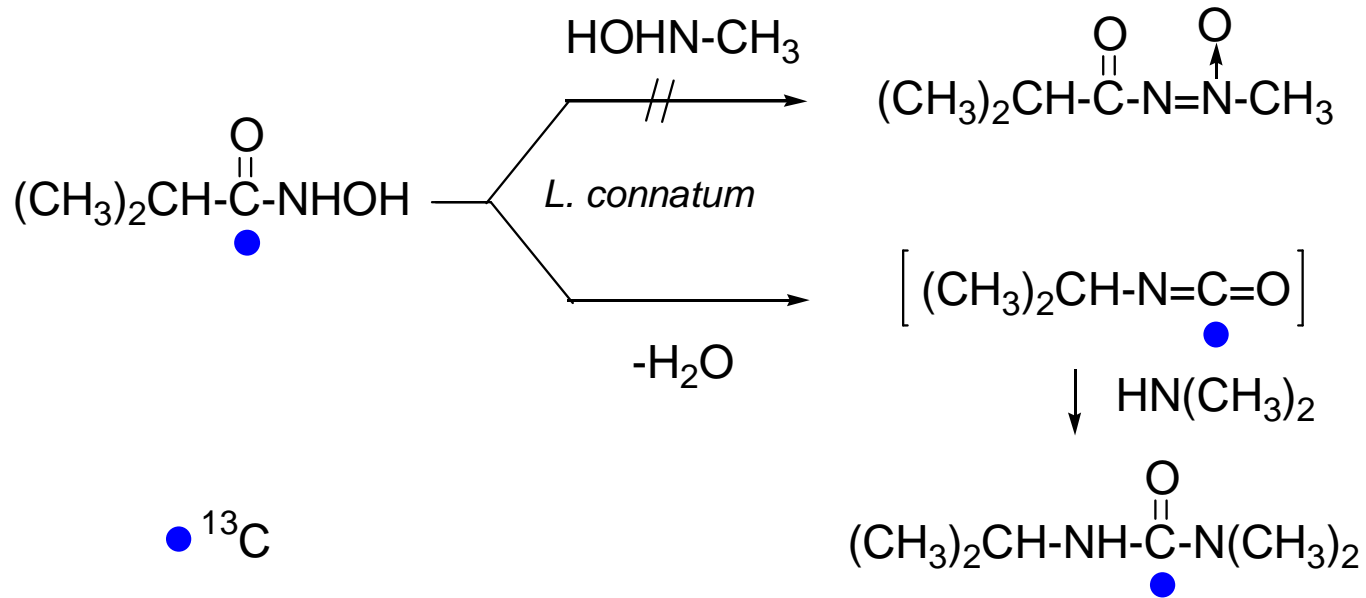


Katharina Aulinger 1999

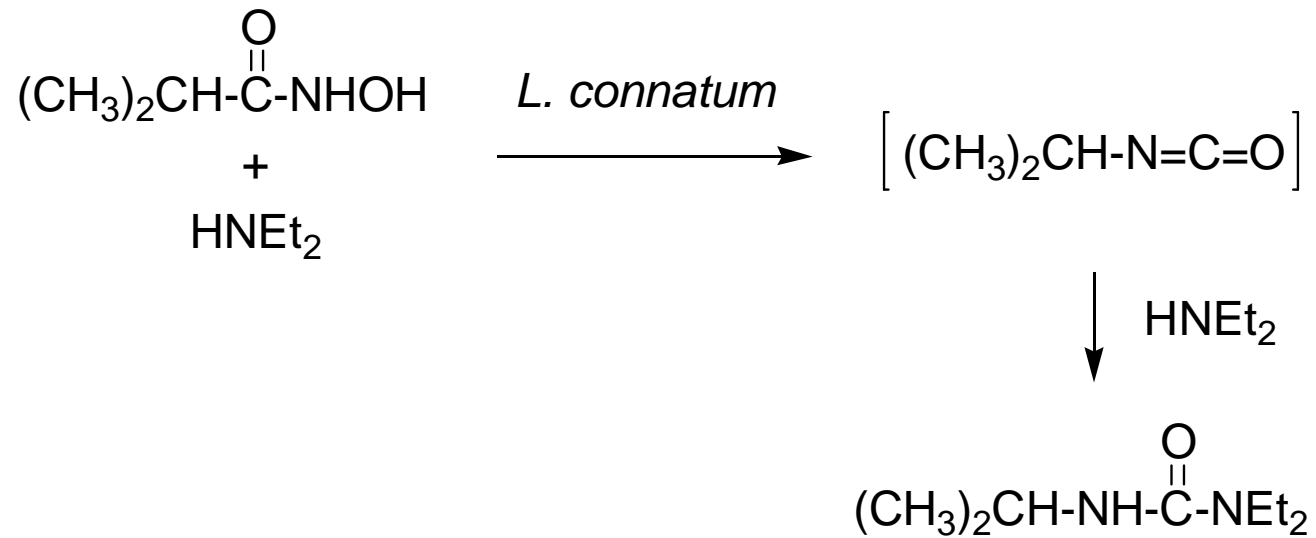
In vivo Lossen-Umlagerung nach Verfütterung der isosteren Hydroxamsäure an *Lyophyllum connatum*



In vivo Lossen-Umlagerung nach Verfütterung der isosteren Hydroxamsäure an *Lyophyllum connatum*



Verfütterung der Hydroxamsäure zusammen mit Diethylamin an
Lyophyllum connatum



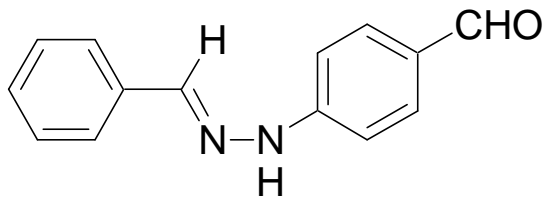
Anischampignon (*Agaricus silvicola*)



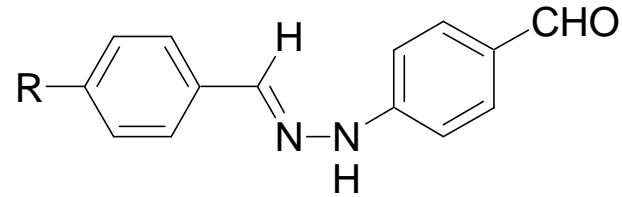
Schäffersche Kreuzungsreaktion

Zieht man auf der Huthaut zwei zueinander senkrechte Linien mit Anilin und Salpetersäure, so färbt sich bei einer positiven Schaeffer-Reaktion die Kreuzungsstelle feuerrot.

Isolierung der Chromogene



Schaefferal A

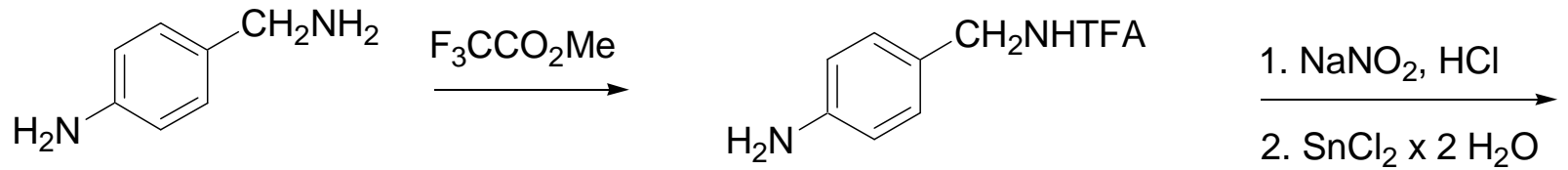


Schaefferal B, R = OH

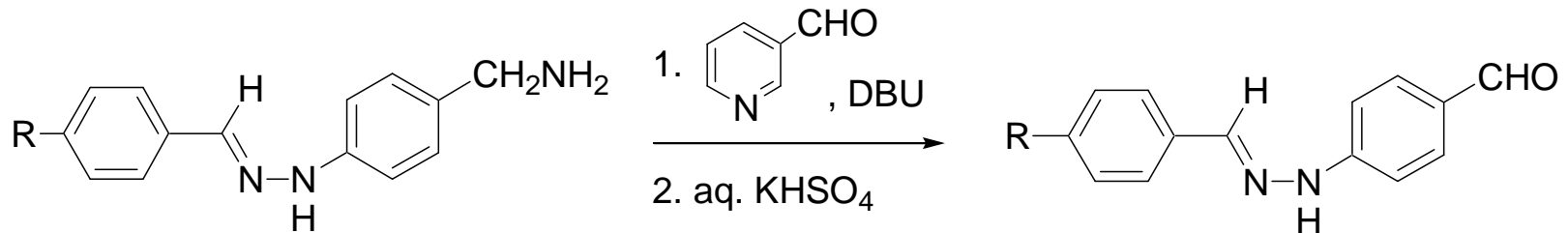
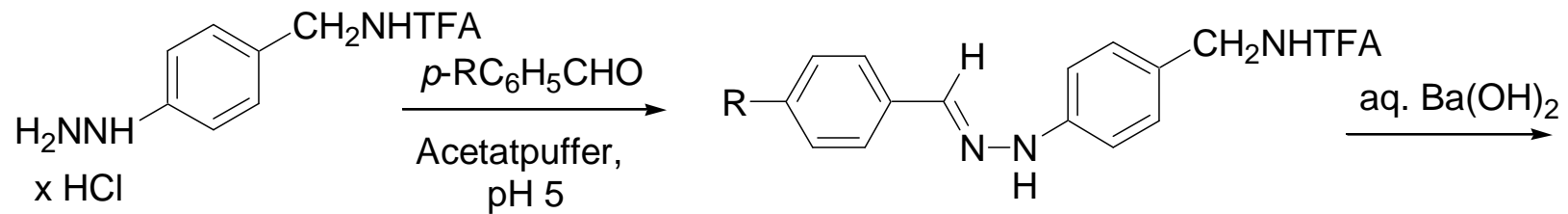
Schaefferal C, R = unbekannt

Rengin Kileci-Ksoll 1989

Synthese der Schaefferale A und B



1. NaNO_2 , HCl
 2. $\text{SnCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$

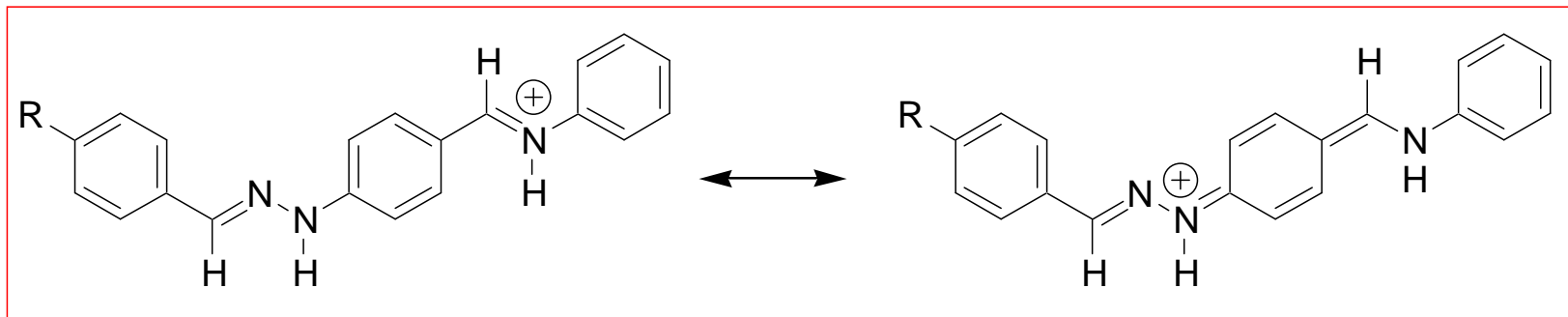
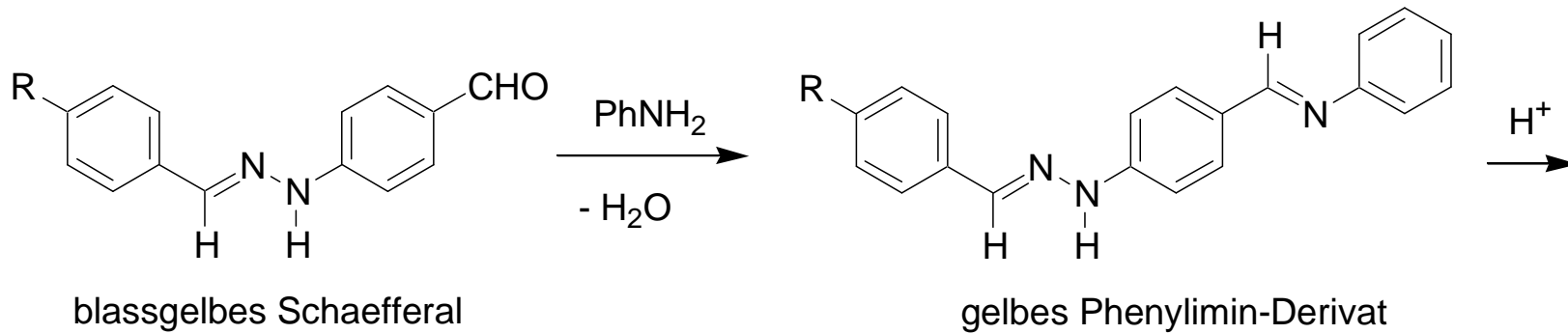


Schaefferal A, $\text{R} = \text{H}$ (55%)

Schaefferal B, $\text{R} = \text{OH}$ (33%)

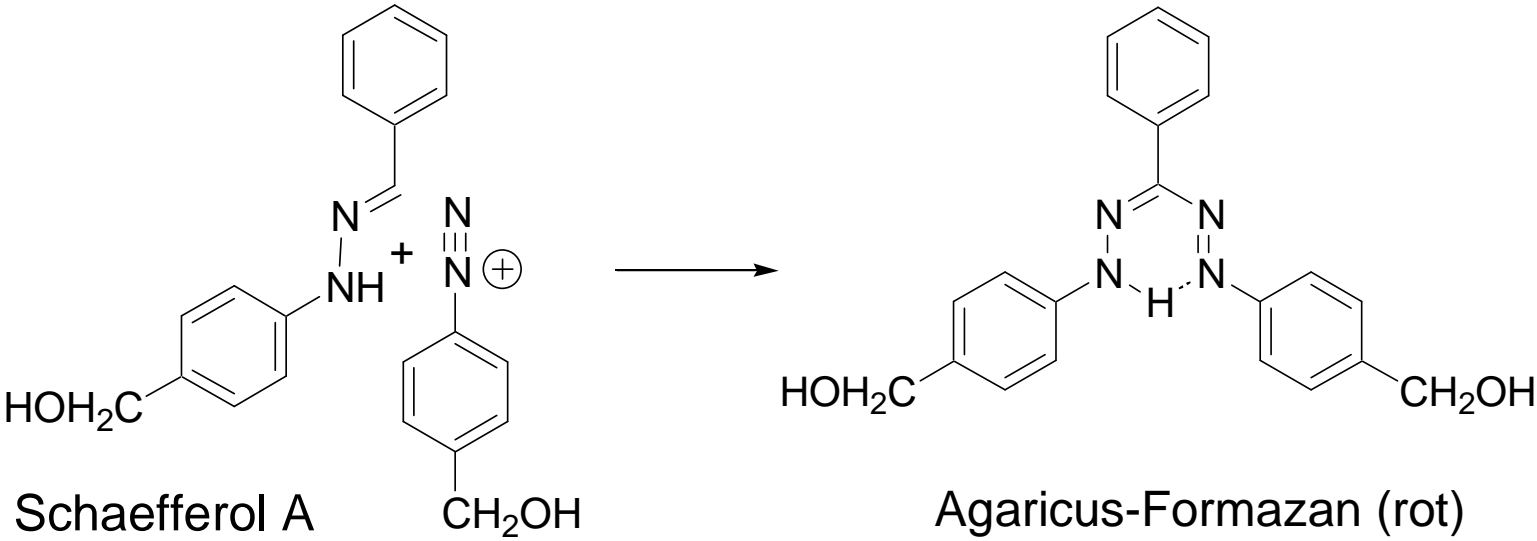
Christian Winklhofer 1996

Chemismus der Schäffer'schen Kreuzungsreaktion



orangerotes Kation

Agaricus-Formazan



Agaricus-Formazan (rot)
bildet sich beim Stehenlassen
des Pilzextraktes

Rengin Kilecy-Ksoll 1989

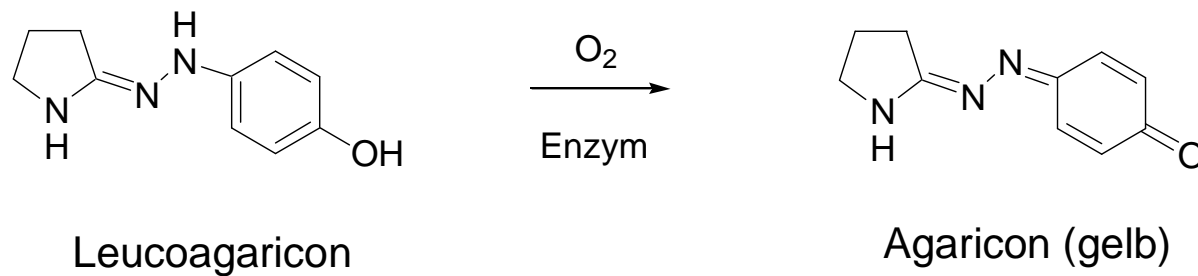
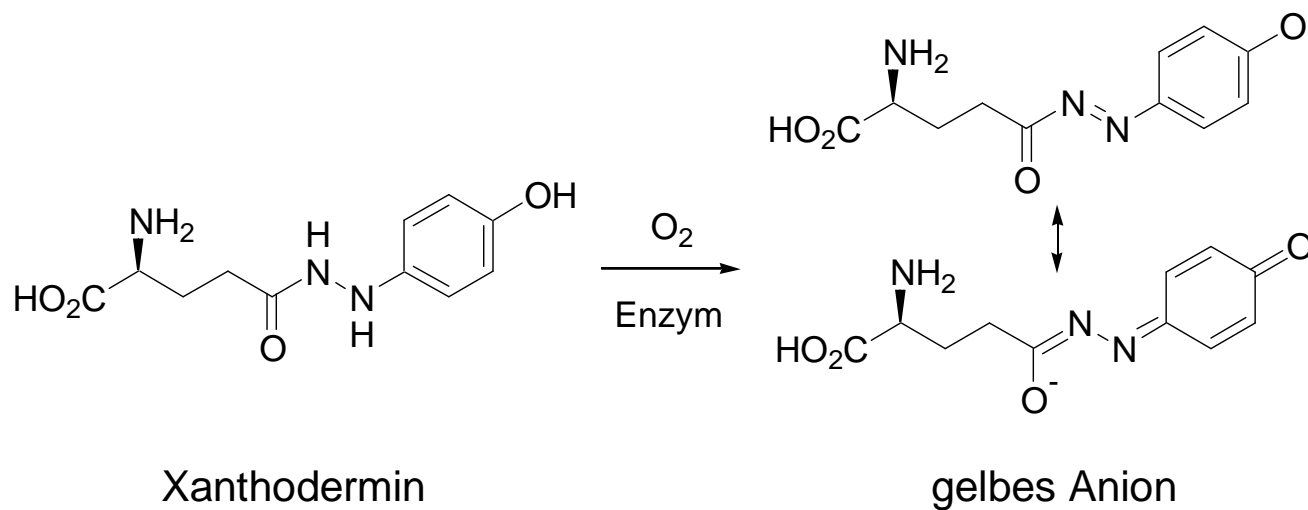
Karbolegerling (*Agaricus xanthoderma*)



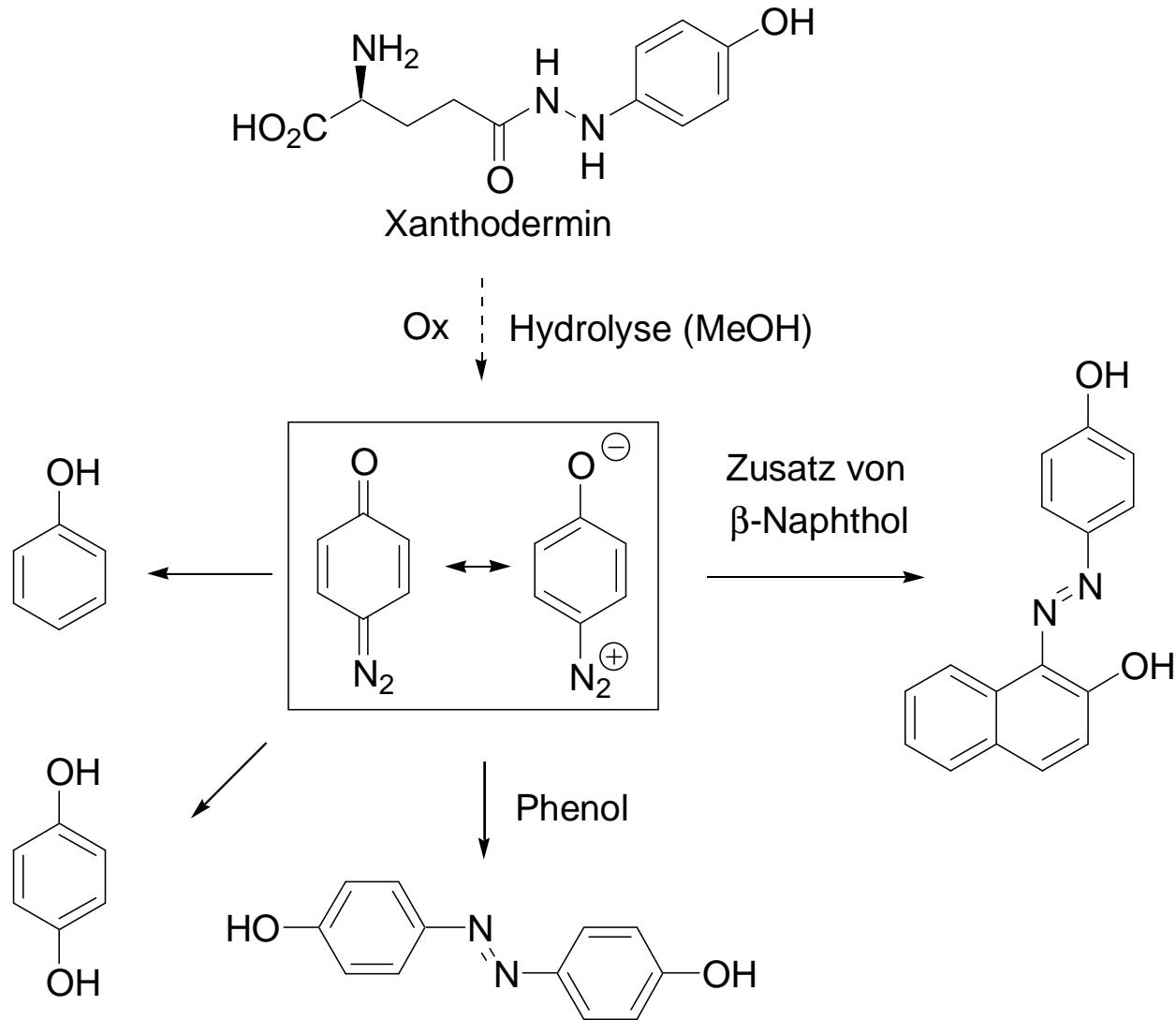
Stark gilbend, im Schnitt chromgelb verfärbend, vor allem an der Stielbasis.
Schäffer-Reaktion negativ.

Widerlicher Geruch nach Phenol, der spätestens beim Kochen auffällt. Nach
meist 2-4 Stunden Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und Bauchkrämpfe;
die Symptome halten für Stunden an.

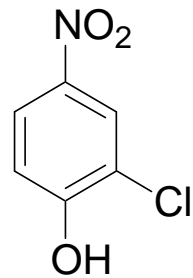
Inhaltsstoffe von *Agaricus xanthoderma*



4-Diazo-2,5-cyclohexadien-1-on aus *Agaricus xanthoderma*



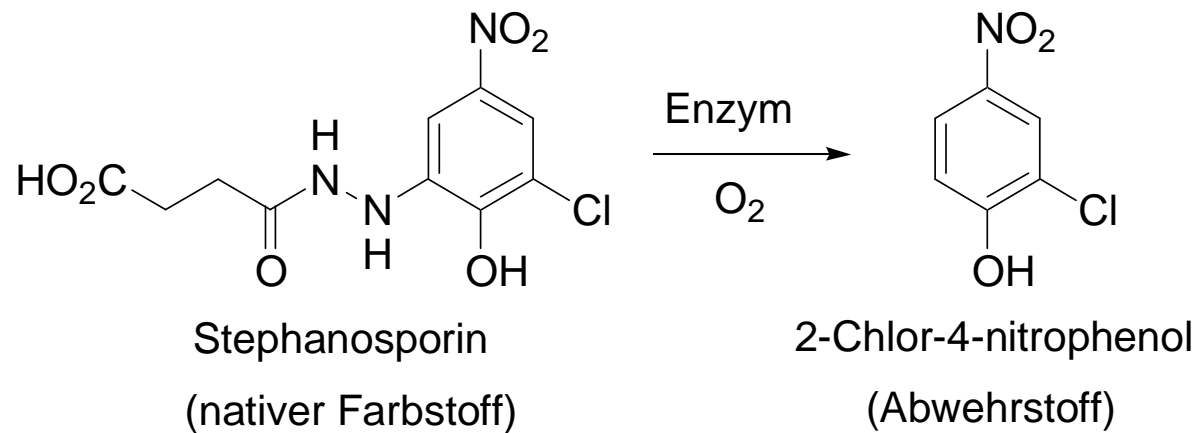
Stephanosporin, der orange-gelbe Farbstoff der Trüffel *Stephanospora caroticolor*



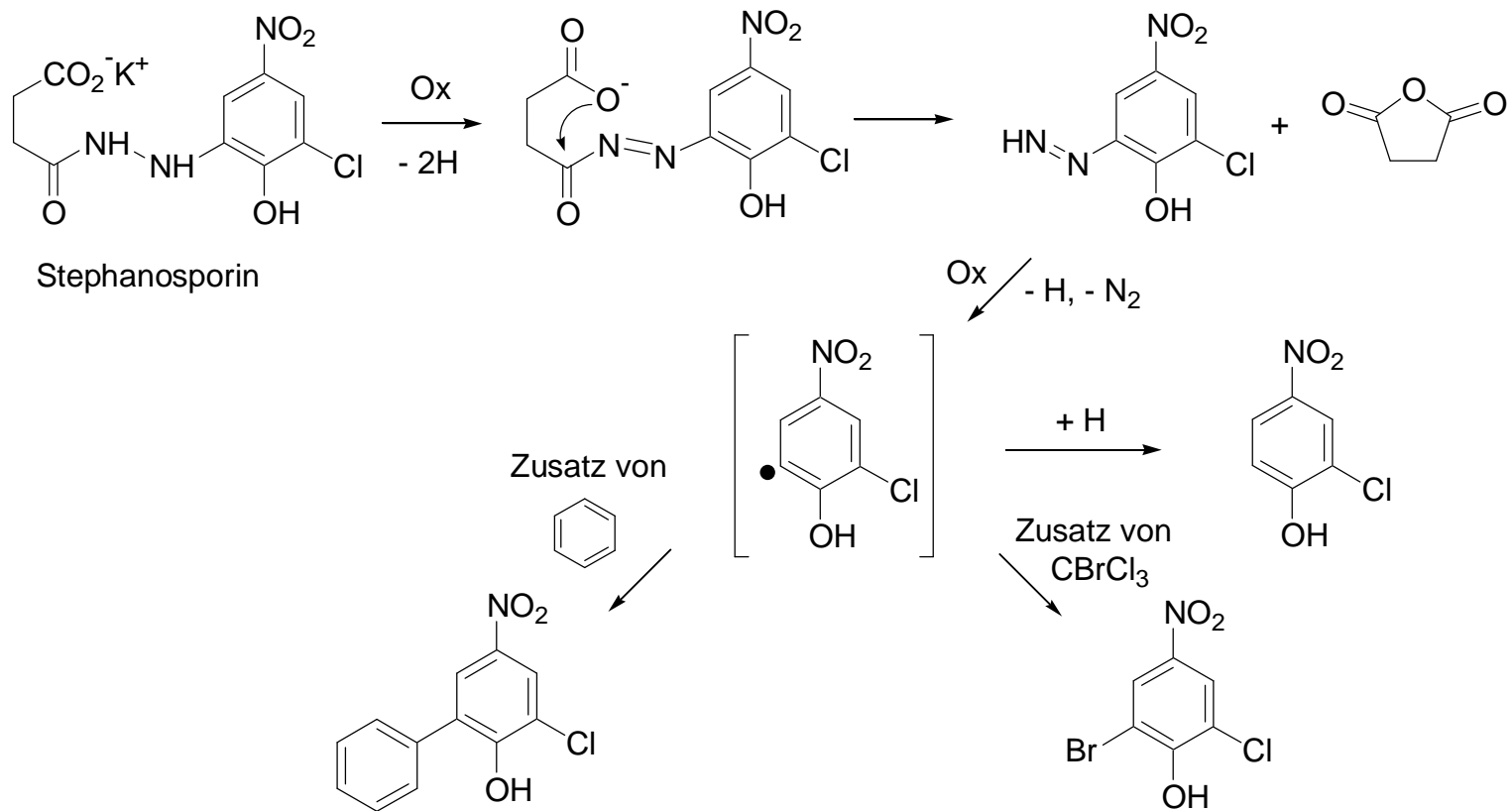
2-Chlor-4-nitrophenol

(>2% des Trockengewichts
aus getrockneten oder
verletzten Fruchtkörpern)

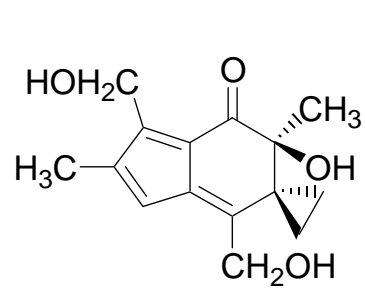
Stephanosporin, der orange-gelbe Farbstoff der Trüffel *Stephanospora caroticolor*



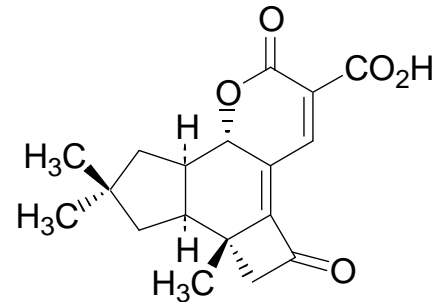
Bildung von 2-Chlor-4-nitrophenol aus Stephanosporin



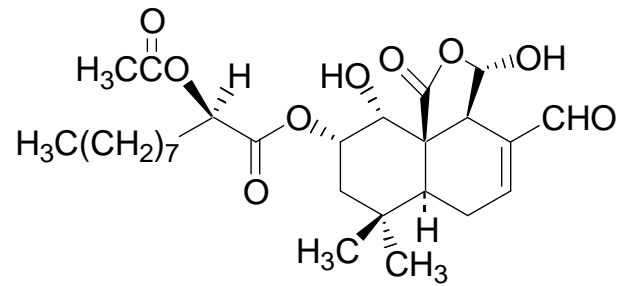
Antibiotisch wirksame Terpene aus Kulturen von Basidiomyceten (Zusammenarbeit mit Prof. Timm Anke, Kaiserslautern)



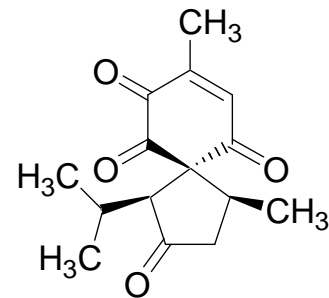
Leaianafulven



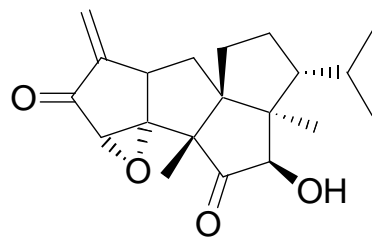
Lentinellsäure



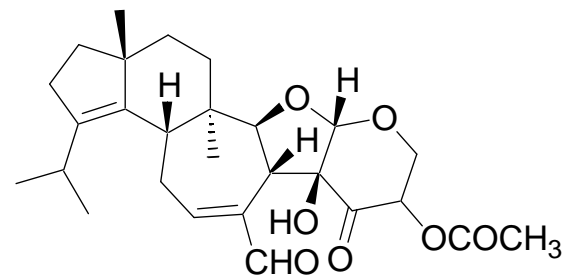
Mniopetal A



Hemimycin A

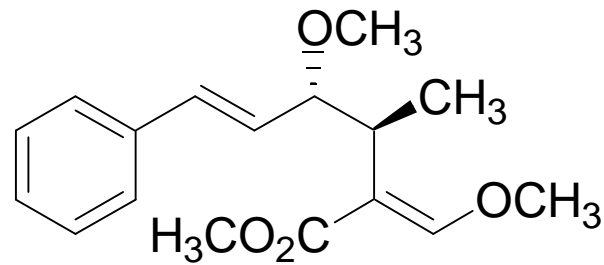


Crinipellin A



Striatal A

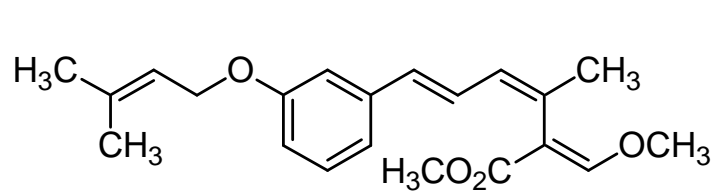
Oudemansin A, ein mit den Strobilurinen nahe verwandtes
Fungizid aus dem Buchenschleimröbling
(*Oudemansiella mucida*)



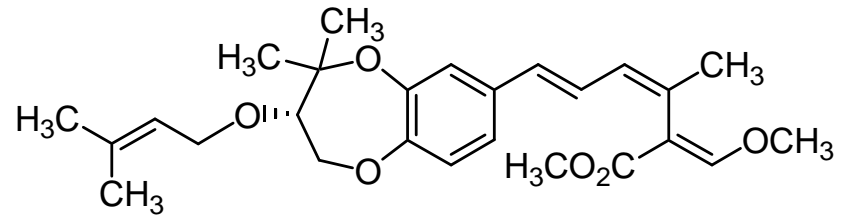
Oudemansin A

T. Anke, H.-J. Hecht, G. Schramm, W. St., J. Antibiotics **1979**, 32, 1112

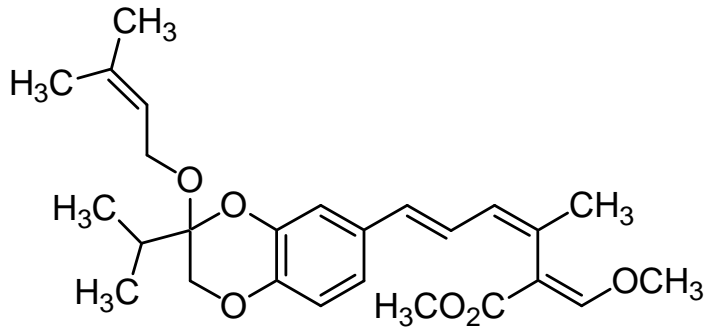
Weitere Strobilurine aus Basidiomyceten-Kulturen



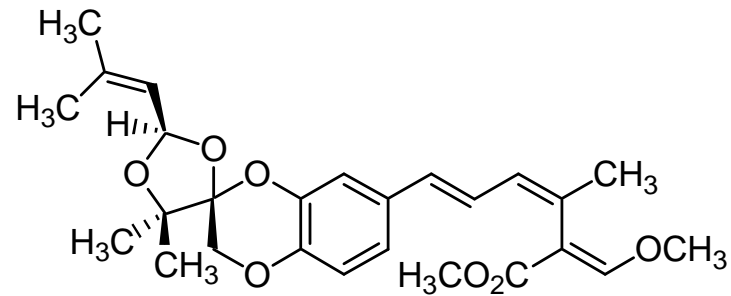
Strobilurin C



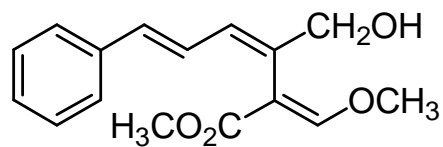
Strobilurin D



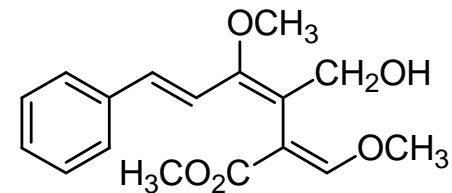
Strobilurin M



Strobilurin E (rel. Konfiguration)



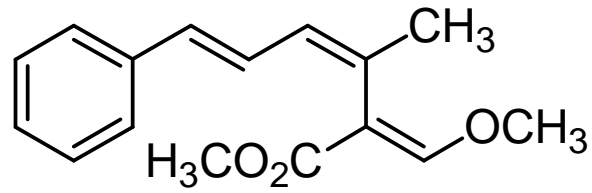
Hydroxystrobilurin A



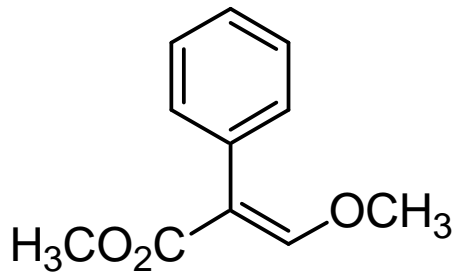
9-Methoxystrobilurin A

Strobilurine konnten bisher aus 15 Blätterpilzgattungen isoliert werden.

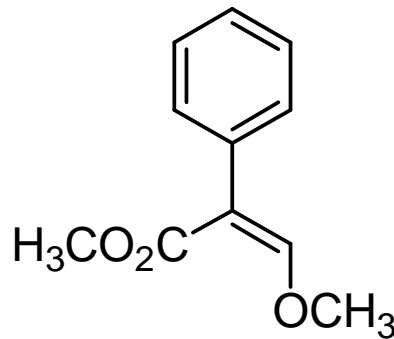
Struktur-Wirkungsbeziehungen I



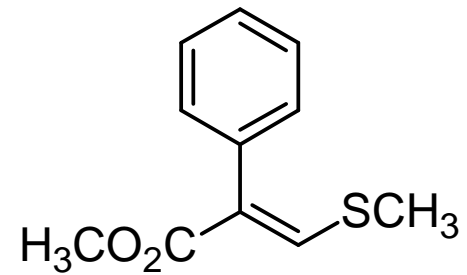
Strobilurin A
stark antifungisch wirksam



schwach wirksam

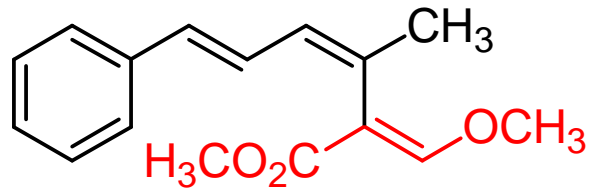


unwirksam

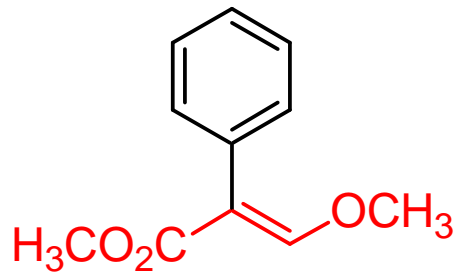


unwirksam

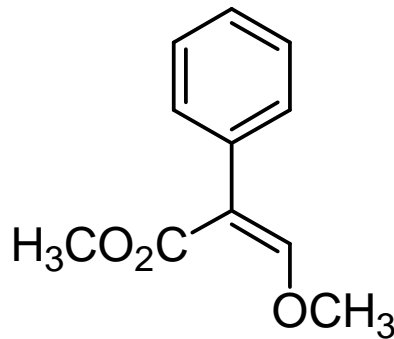
(*E*)- β -Methoxyacrylat-Einheit ist die Wirkgruppe (Pharmokophor)



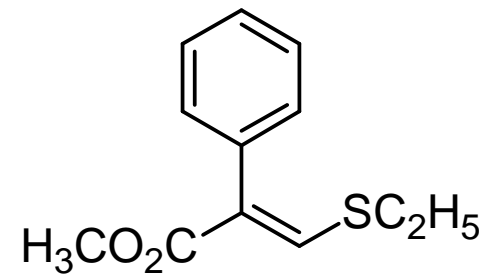
Strobilurin A
stark wirksam



schwach wirksam

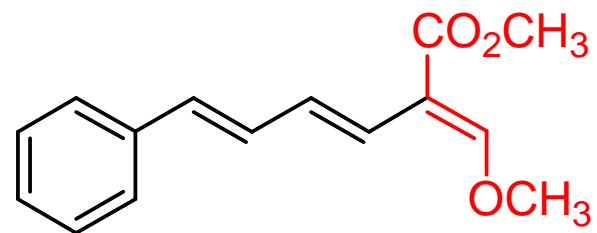
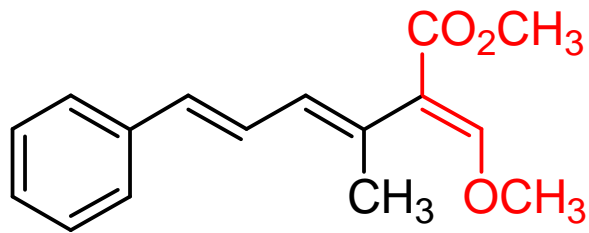
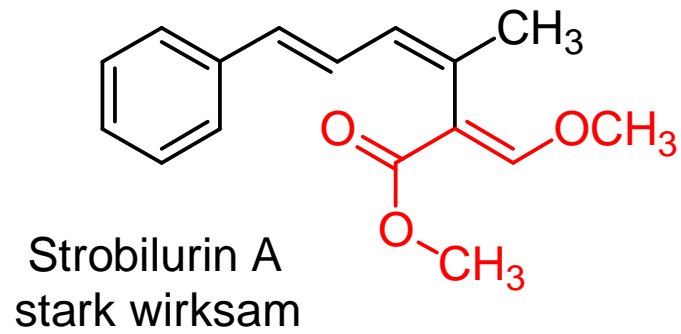


unwirksam

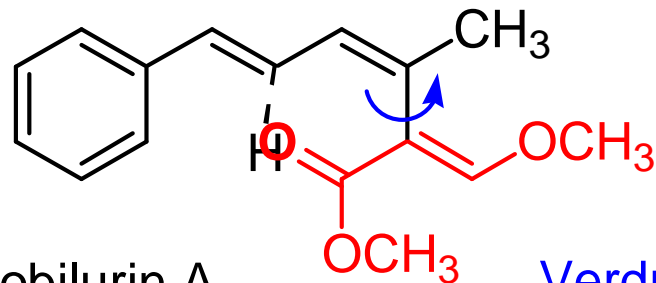


unwirksam

Struktur-Wirkungsbeziehungen II

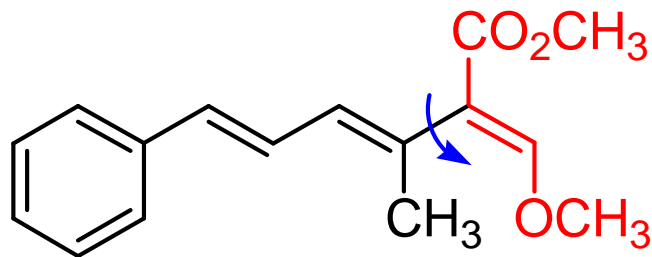


Für hohe antifungische Wirksamkeit ist eine möglichst starke Verdrillung der β -Methoxyacrylatgruppe erforderlich!

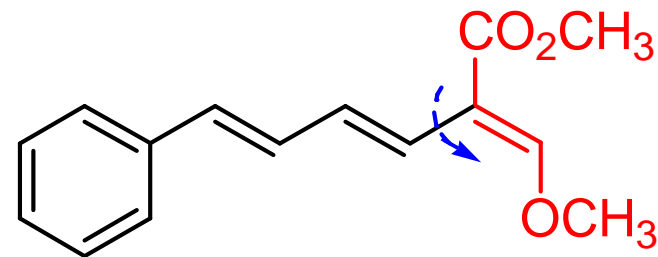


Strobilurin A
stark wirksam

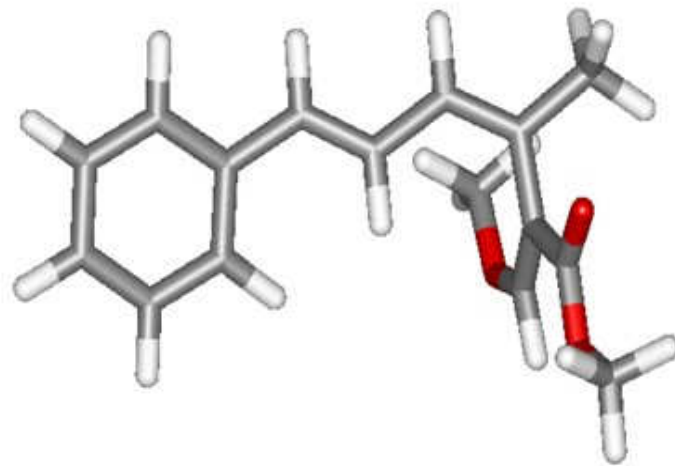
Verdrillung um 80°



(9E)-Strobilurin A
schwach wirksam 35°



(9E)-Norstrobilurin
fast unwirksam 17°

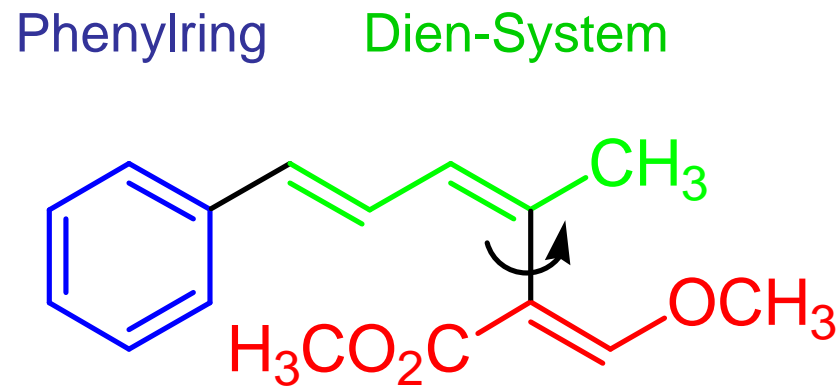


Energetisch günstigste Konformation von Strobilurin A

Strobilurin als Leitstruktur

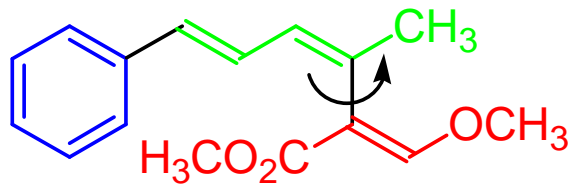
! Herbe Enttäuschung !

Das **Dien-System** macht die Strobilurine gegen UV-Strahlung empfindlich. Sie werden im Sonnenlicht schon nach wenigen Minuten zerstört und sind daher für praktische Anwendungen im Gewächshaus oder auf dem Feld ungeeignet.



verdrilltes
(E)- β -Methoxyacrylat

Rettende Idee: Einbau eines Benzolrings!

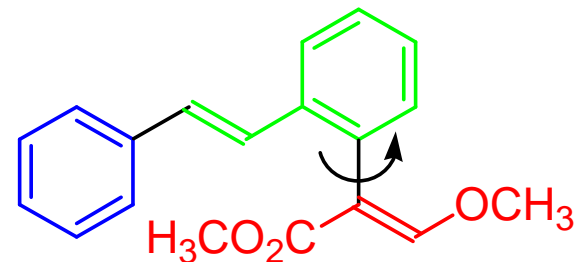


Strobilurin A, 80°

spezifisch gegen Pilze wirksam

wenig stabil

aufwändige Synthese



Enoletherstilben, 90°

10 mal stärker antifungisch wirksam
als Naturstoff

wesentlich stabiler,
auch gegen Sonnenlicht/O₂

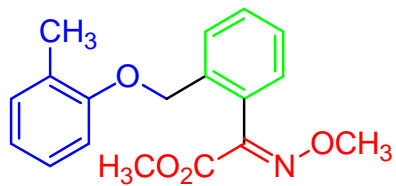
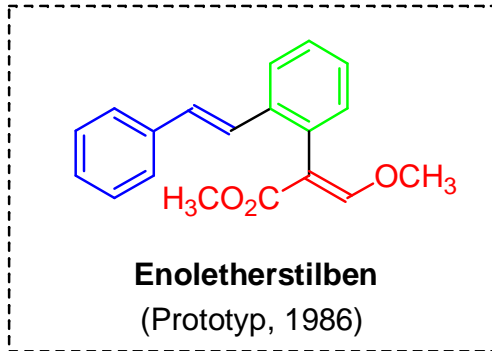
einfache Synthese

Biologische Aktivität der Strobilurine

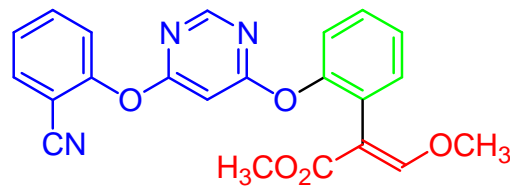
- Hemmen schon in geringen Konzentrationen (1–10 µg/mL) spezifisch das Wachstum von Pilzen und verhindern gezielt deren Sporen-Keimung. Unwirksam gegen Bakterien (T. Anke).
- Wirkungsmechanismus: Unterbrechung des Elektronentransports in der mitochondrialen Atmungskette durch Wechselwirkung mit dem Q_o -Zentrum des bc_1 -Komplexes. Dadurch Hemmung der ATP-Synthese (G. von Jagow).
- Röntgenstrukturanalyse des cokrystallisierten Strobilurin / bc_1 -Komplexes lieferte Details der Interaktion mit dem aktiven Zentrum.
- Strobilurine sind ungiftig gegenüber Warmblütlern, Nutzinsekten und Pflanzen und werden rasch abgebaut (Verseifung der Estergruppe).

W. F. Becker, G. von Jagow, T. Anke, W. St., FEBS Lett. 1981, 132, 329

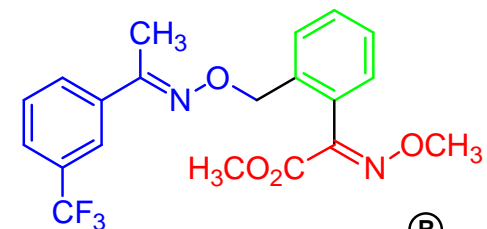
Einige kommerzielle Strobilurine nach dem Vorbild des Enoletherstilbens



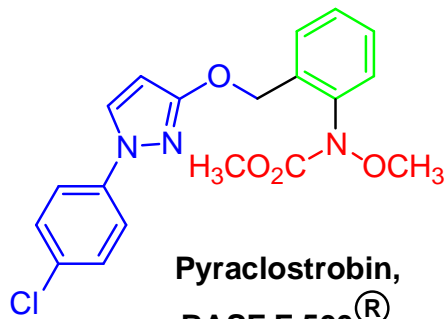
Kresoxim-methyl, Brio[®]
(BASF, 1996)



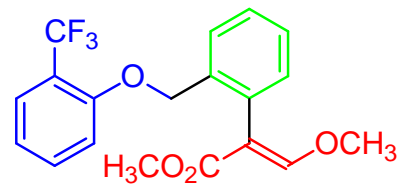
Azoxystrobin, Amistar[®]
(ICI, Syngenta, 1996)



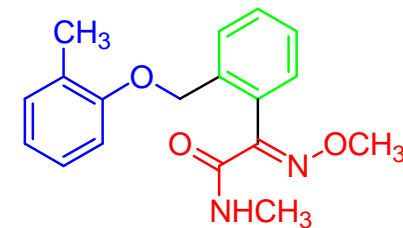
Trifloxystrobin, Flint[®]
(Novartis, Bayer 1999)



**Pyraclostrobin,
BASF F 500[®]**
(BASF, 2001)

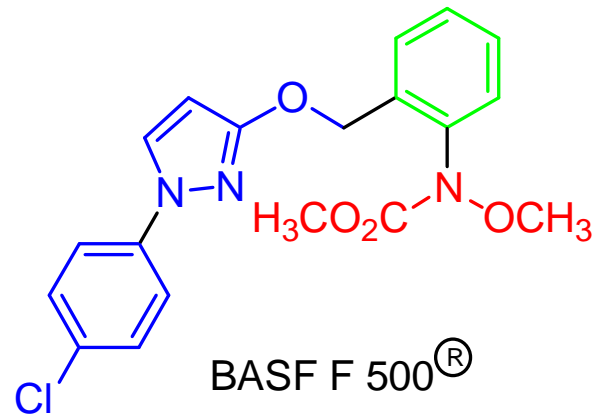


Picoxystrobin
(Syngenta, 2002)



Dimoxystrobin
(BASF, 2003)

BASF F 500[®] setzt neue Maßstäbe im Pflanzenschutz



Echtes Universalfungizid mit breitem Wirkungsspektrum; bietet bereits in geringen Mengen (~100 g/ha) einen lang anhaltenden Schutz von Getreide, Gemüse, Obst und Reben und besitzt günstige ökologische und ökotoxikologische Eigenschaften. Zusätzlich bewirkt BASF F 500[®] bei Getreide eine Ertragssteigerung um 10% und erhöht die Pflanzengesundheit und Stresstoleranz (gesteigerte CO₂-Assimilation, gesteigerte Stickstoff-Assimilation durch erhöhte Nitrat-Reduktase-Bildung, besserer Schutz gegen Viren und Bakterien, effizientere Nutzung von Wasser u. a. positive Effekte).

Ein eindrucksvolles Beispiel für das Zusammenwirken von fungiziden und Plant Health Effekten stellt die erfolgreiche Bekämpfung des Asiatischen Sojabohnenrostes in Brasilien dar, durch den ein Totalverlust der Ernte drohte. F 500[®] unterdrückte die durch den Parasiten induzierte Ethylenproduktion und verhinderte damit die Schwarzverfärbung und den vorzeitigen Verlust der Blätter.

[vgl. http://www.chemikalien.de/chemie/neuer-standard-bei-fungiziden_1328.html]

Relevante Literatur

“Strobilurins: Evolution of a new class of active substances“, H. Sauter, W. Steglich, T. Anke, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1416.

- “Understanding the strobilurin fungicides“. D. W. Bartlett, C. R. A. Godfrey et al. , *Pesticide Outlook* **2001**, *12*, 143.
- “Strobilurin and other complex III inhibitors“, H. Sauter, in “Modern crop protection compounds“, Wiley-VCH **2007**, S. 457.

Pilzernte Bonn 1982



Neureuth 2002



Danksagung

Burghard Fugmann

Georg Böger

Dr. Yang Ye

Katharina Aulinger

Sabine Hilbig

Rengin Kileci-Ksoll

Heinz Zorn

Christian Winklhofer

Sabine Hilbig

Claus Kilpert

Martin Lang

Peter Spiteller

Veronika Hellwig

Dr. Norbert Arnold, Dr. Bert Steffan

Prof. Andreas Bresinsky

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Fonds der Chemischen Industrie

Bundesministerium für Forschung und Technologie

Danksagung Strobilurine

Universität Bonn, LMU München

Georg Schramm, Barbara Schwalge, Dr. Bert Steffan

Universität Kaiserslautern

Prof. Timm Anke, Joachim Bäuerle, Wolfgang Weber

BASF AG Ludwigshafen

Dr. Hubert Sauter, Dr. Ulrich Schirmer, Dr. Dietrich Mangold u. v. a.

Universität Frankfurt

Prof. Gebhard von Jagow, W. F. Becker