

4-Hydroxyphenylpyruvate-dioxygenase-Inhibitoren plus Safener: Lösungen für eine moderne und nachhaltige Landwirtschaft

Hartmut Ahrens, Gudrun Lange, Thomas Müller, Chris Rosinger, Lothar Willms und Andreas van Almsick*

Herbizide · HPPD-Inhibitoren · Pflanzenschutzmittel ·
Safeners · Wirkstoffentwicklung

Der Firma Bayer zum
150. Jubiläum gewidmet

HPPD-Inhibitoren verhindern die Bildung der pflanzlichen Carotinoidpigmente, was wiederum zum Chlorophyllabbau führt. Dieser „Bleaching“-Wirkmechanismus kommt bei Produkten zur Kontrolle von Schadpflanzen in unterschiedlichen Kulturen wie Reis, Mais und Getreide zum Einsatz. In Kombination mit einem geeigneten Safener lässt sich das Potential dieser Verbindungsklasse bei der selektiven Bekämpfung der wichtigsten Schadpflanzen, einschließlich der rasch zunehmenden Fälle von Resistenzen gegen andere wichtige Herbizidklassen, voll ausschöpfen.

1. Einführung

Die Sicherheit der Welternährung wird durch Ernteverluste infolge von Schadpflanzen, Krankheitserregern und tierischen Schädlingen bedroht. Wird nicht gegengesteuert, sind es die Schadpflanzen, die schätzungsweise den größten Einfluss auf die globalen Ernteerträge haben würden (Rückgang um 34 %).^[1] Die Kontrolle von Schadpflanzen ist daher für die Gewährleistung der Nahrungsmittelversorgung für die wachsende Weltbevölkerung von größter Bedeutung.

Etwa seit Mitte des letzten Jahrhunderts spielen synthetische Herbizide eine zunehmend wichtige Rolle bei der Schadpflanzenkontrolle, indem sie mechanische Bekämpfungsmaßnahmen ersetzen bzw. ergänzen. Dies gilt auch für die Kontrolle auf nicht landwirtschaftlichen Flächen wie z. B. im Schienenbereich. Herbizide, die Schadpflanzen, nicht aber Nutzpflanzen schädigen, werden als „selektiv“ und die anderen als „nicht-selektiv“ bezeichnet. Allerdings hat die Einführung von genetisch modifizierten (GM) Sorten bei Kulturpflanzen, welche nicht-selektive Herbizide (insbesondere Glyphosat^[2]) tolerieren, diesen Unterschied verwischt.

Bei manchen Anbausystemen haben die Landwirte nicht nur die mechanische Bekämpfung von Schadpflanzen redu-

ziert, sondern auch die Fruchtfolge und die Anzahl der verwendeten Herbizide. All diese Faktoren haben den Selektionsdruck auf einige Schadpflanzenarten verschärft. Im Verlauf

einiger Jahre hat dies zu Feldern geführt, die Schadpflanzen enthalten, die gegen bislang wirksame Herbizide resistent sind.

Signifikante Resistenzen bestehen beispielsweise gegen bedeutende Wirkmechanismen wie Acetyl-Coenzym A-Carboxylase (ACCase), Acetolactatsynthase (ALS) und seit kurzem gegen das wichtigste Herbizid Glyphosat.^[3] Es existiert daher ein wachsender Bedarf nach neuen Lösungen zur Bekämpfung eines breiten Spektrums an Schadpflanzen, einschließlich resistenter Biotypen, in Kombination mit einer hervorragenden Nutzpflanzen-selektivität. Der „Bleaching“-Herbizidwirkmechanismus des 4-Hydroxyphenylpyruvate-dioxygenase(HPPD)-Inhibitors bietet solche Lösungen.

Bei den Mitte des 20. Jahrhunderts erstmals entdeckten Safenern handelt es sich um chemische Substanzen, die dazu führen, dass Nutzpflanzen (nicht aber Schadpflanzen) Herbizide schneller abbauen. Dadurch stellen sie sicher, dass Herbizide zwar weiter die Schadpflanzen kontrollieren, die Nutzpflanzen jedoch nur wenig oder gar nicht schädigen. Auf diese Weise liefern die Safener eine Selektivitätstechnologie, die eine Alternative zu der kürzlich entwickelten GM-Methode darstellt. Bislang wurden etwa 15 Safener kommerzialisiert, von denen jedoch einige bereits schon wieder ersetzt wurden.

In diesem Kurzaufsatz möchten wir die Geschichte der HPPD-Entdeckungen umreißen und beschreiben, wie die Bayer CropScience AG (BCS) ihre eigenen HPPD-Verbindungen fand. Zudem möchten wir einen Einblick in die Safener geben, die BCS zur Erzielung der notwendigen Nutz-

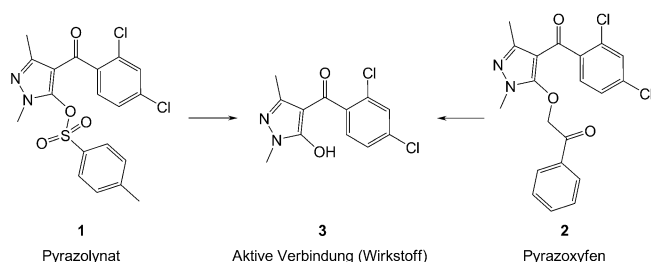
[*] Dr. H. Ahrens, Dr. G. Lange, Dr. T. Müller, Dr. C. Rosinger, Dr. L. Willms, Dr. A. van Almsick
Small Molecules Research, Bayer CropScience AG
Industriepark Höchst, 65926 Frankfurt a.M. (Deutschland)
E-Mail: andreas.alsmick@bayer.com

pflanzenselektivität entwickelt und mit den HPPD-Herbiziden kombiniert hat. Diese Beispiele zeigen, wie wertvoll diese Kombinationen aus HPPD-Inhibitor plus Safener sind und welche Möglichkeiten sie als ausgezeichnete Lösungen für eine moderne und nachhaltige Landwirtschaft bieten.

2. Entdeckung der HPPD-Inhibitoren

2.1. Chemie

Anfang der 70er Jahre entwickelte die Firma Sankyo Pyrazolynat (**1**; Schema 1) das in den 80er Jahren auf den Markt



Schema 1. Reis-HPPD-Herbizide Pyrazolynat (**1**) und Pyrazoxyfen (**2**) und ihre Metabolisierung zur aktiven Verbindung **3**.

kam. Ihm folgte 1985 Pyrazoxyfen (**2**) von Ishihara. Beide Verbindungen waren für die Kontrolle von Schadpflanzen im Reisanbau konzipiert. Es handelt sich bei den Substanzen um Prodrugs, die das Hydroxypyrazol **3** freisetzen. Heute weiß man, dass **3** die herbizide Aktivität über eine Bindung an das HPPD-Enzym bewirkt. Diese ersten HPPD-Inhibitoren

kontrollieren einjährige sowie mehrjährige Schadpflanzen in Reisfeldern bei einer Aufwandmenge von 3–4 kg a.i./ha.^{[*][4–6]}

1982 entdeckte die Firma Stauffer (eine Vorgängergesellschaft von ICI, heute Syngenta) HPPD-Inhibitoren vom Triketontyp, die interessanterweise mit dem Naturstoff Leptospermon (**4**; Abbildung 1) verwandt sind, welches eine schwache HPPD-Herbizidwirkung aufweist.^[7]

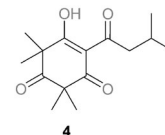


Abbildung 1. Struktur von Leptospermon (**4**).

Bei Stauffer war das ursprüngliche Ziel jedoch, andere funktionelle Imitatoren der Oximino-Einheit von Sethoxydim (**5**; Abbildung 2), einem ACCase-Herbizid, herzu-

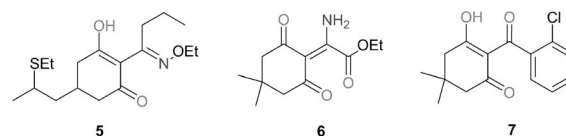
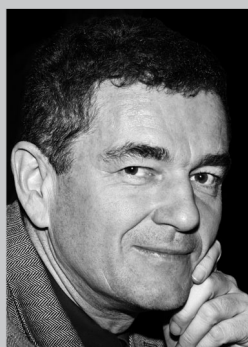


Abbildung 2. Strukturen von Sethoxydim (**5**), der Leitstruktur **6** und dem ersten Triketon-HPPD-Inhibitor **7**.

stellen. Nach einer ersten vielversprechenden Herbizidwirkung von Verbindung **6** lieferten weitere Strukturvariationen

[*] a.i. = active ingredients (Wirkstoff); gemeint ist grundsätzlich die Verbindung, egal ob es sich um ein Prodrug handelt oder nicht.



Andreas van Almsick promovierte 1990 an der Universität Wuppertal über Enzyme in der organischen Synthese. Er arbeitete über 20 Jahre als Chemiker in der Forschung, zunächst 1991 bei Schering in Berlin und seit 1996 in Frankfurt bei AgrEvo, Aventis und Bayer CropScience. Er ist auf die HPPD-Herbizidforschung spezialisiert und entwickelte Tembotrion und Tefuryltrion.



Hartmut Ahrens studierte Chemie in Kiel und promovierte in der Arbeitsgruppe von Prof. Hoppe in Münster über stereoselektive Synthese. Anschließend war er bei Akzo Nobel in der Zentralforschung unter anderem in den Bereichen „Functional Chemicals“ und „Surfactants“ tätig. Seit 1999 arbeitet er in der Herbizidforschung in Frankfurt, zunächst bei AgrEvo und Aventis, seit 2002 bei Bayer CropScience.



Chris Rosinger promovierte 1982 an der University of North Wales, Bangor, über Pflanzenphysiologie bei Kältestress und arbeitete im Anschluss als Postdoc an der University of Manitoba, Kanada, an einem ähnlichen Thema. Er ist seit 28 Jahren als Biologe in der Herbizidforschung tätig, zunächst bei Schering in Großbritannien und seit 1994 in Frankfurt bei AgrEvo, Aventis und Bayer CropScience. Sein aktuelles Fachgebiet sind Safener und die Reisherbizidforschung.



Thomas Müller promovierte nach seinem Diplom 1996 an der Universität Frankfurt 1999 am MPI für Kohlenforschung in Mülheim auf dem Gebiet der Naturstoffsynthese und arbeitete im Anschluss als Postdoc an der Ohio State University, Columbus, Ohio. Er war als Chemiker 12 Jahre in der Prozess- und Herbizidforschung tätig, zunächst bei Aventis, dann bei Bayer CropScience. Aktuell beschäftigt er sich hauptsächlich mit der Safener- und der Phytotonika-Forschung.

das 2-Chlorbenzoyl-Derivat **7** mit einer noch besseren Herbizidwirkung sowie, überraschenderweise, einer Bleichsymp-tomatik.^[8]

Intensivierte Forschung auf diesem Gebiet führte zur Entwicklung und Markteinführung der Mais-HPPD-Herbi-zide Sulcotrion (**8**; im Nachauflauf; Abbildung 3) und später

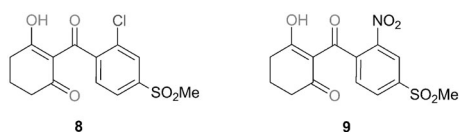
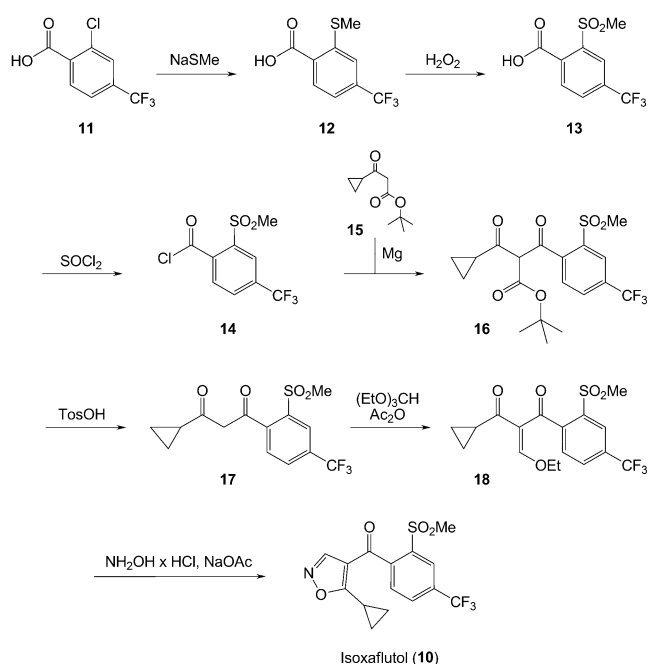


Abbildung 3. Strukturen von Sulcotrion (**8**) und Mesotrion (**9**).

Mesotrion (**9**; im Vor- und Nachauflauf). Beide Substanzen kontrollieren hauptsächlich breitblättrige Schadpflanzen und sind anders als Pyrazolynat die eigentlichen HPPD-Inhibito-ren (keine Prodrugs).^[4]

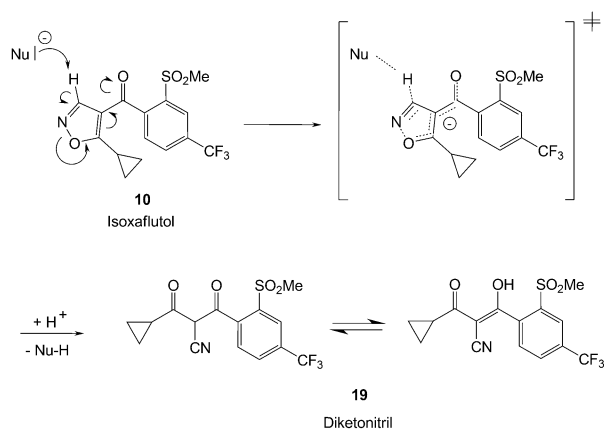
Ende der 80er Jahre identifizierte man bei Rhone-Poulenc (eine Vorgängergesellschaft von BCS) eine interessante neue Leitstruktur, aus der mittels Optimierung Isoxaflutol (**10**; Schema 2) entwickelt wurde (1991 erstmals patentiert^[9]). Damit etablierte sich eine neue Klasse von HPPD-Inhibito-ren, diesmal mit einem Isoxazol-Heterocyclus. Isoxaflutol war das erste HPPD-inhibierende Herbizid zur Breitbandbe-kämpfung (Gräser und breitblättrige Schadpflanzen) und auch das erste zur Anwendung im Mais im Voraufbau. Eine Synthesemöglichkeit von Isoxaflutol ist in Schema 2 dar-gestellt und beginnt mit 2-Chlor-4-trifluormethylbenzoesäure (**11**). Durch aromatische nukleophile Substitution mit Natriumthiomethylat und anschließende Oxidation des Thioethers zum Sulfon gelangt man zum Substitutionsmuster der Ben-zoyl-Einheit des Isoxaflutol-Moleküls. Das Säurechlorid der



Schema 2. Synthese von Isoxaflutol (**10**).

Benzoessäure **13** acyliert das Magnesiumenolat des *tert*-Butyl-3-cyclopropyl-3-oxopropionats (**15**), welches im nächsten Schritt decarboxyliert wird. Nach einer Kondensationsreaktion mit Triethylorthoformiat liefert ein abschließender Ringschluss mit Hydroxylamin das Zielpunkt Isoxaflutol.^[4]

Bei den HPPD-Inhibitoren vom Isoxazoltyp handelt es sich um eine neue Art von Prodrug, welche im Boden und in der Pflanze rasch zu den entsprechenden Diketonitrilen, den herbizidaktiven Einheiten, metabolisiert werden (Sche-ma 3).^[10]



Schema 3. Metabolismus und Prodrug-Prinzip von Isoxaflutol (**10**).

2006 brachte BASF das neue Hydroxypyrazol Topramezon (**20**; Abbil-dung 4) auf den Markt. In der Nach-aufbauanwendung kontrolliert Topra-mezon ein breites Spektrum an ein-jährigen Gräsern und breitblättrigen Schadpflanzen. Die ausgezeichnete Verträglichkeit in Mais beruht auf ei-

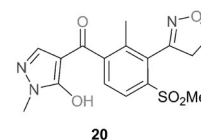


Abbildung 4. Struktur von Topramezon (**20**).



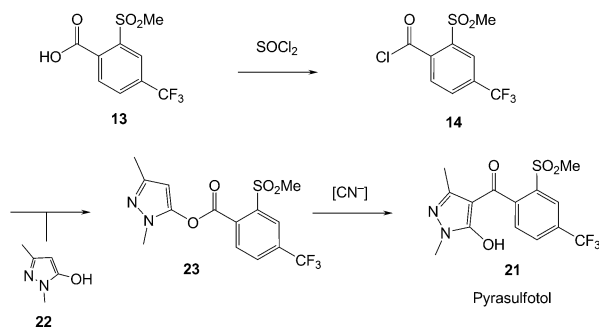
Lothar Willms studierte Chemie an der Uni-versität Bonn und promovierte 1979 über organische Phosphorchemie. Er ist als Che-miker in der Forschung tätig und hatte in diesem Bereich verschiedene Führungsposi-tionen bei Hoechst, Roussel-Uclaf, AgrEvo, Aventis und nun bei Bayer CropScience in-ne. Sein Fachgebiet ist die Beziehung zwis-chen Struktur und Wirkung (SAR) bei Herbiziden und Safenern.



Gudrun Lange studierte Chemie an der Uni-versität Freiburg. Für ihre Doktorarbeit un-tersuchte sie die Selbstassoziation eines Proteins mittels einer Kombination aus Röntgenstreuung und kinetischem Modell (MPI, Hamburg). Seit 1990 arbeitete sie als Proteinkristallographin am EMBL, der University of York und bei Hoechst Pharma und untersuchte dabei Proteine mit Frag-menten und Liganden. Im Jahr 2000 wech-selte sie nach Aventis, jetzt Bayer CropScience, wo sie sich auf strukturbasier-tes Design und die Beziehung innerhalb von Proteinfamilien konzentriert.

nem rascheren Metabolismus und einer schwächeren Bindung an das HPPD-Enzym in der Nutzpflanze.^[11]

Seit 2008 ist ein weiteres Hydroxypyrazol, Pyrasulfotol (**21**; Schema 4), von BCS zur Nachauflaufkontrolle eines breiten Spektrums von breitblättrigen Schädipflanzen ver-



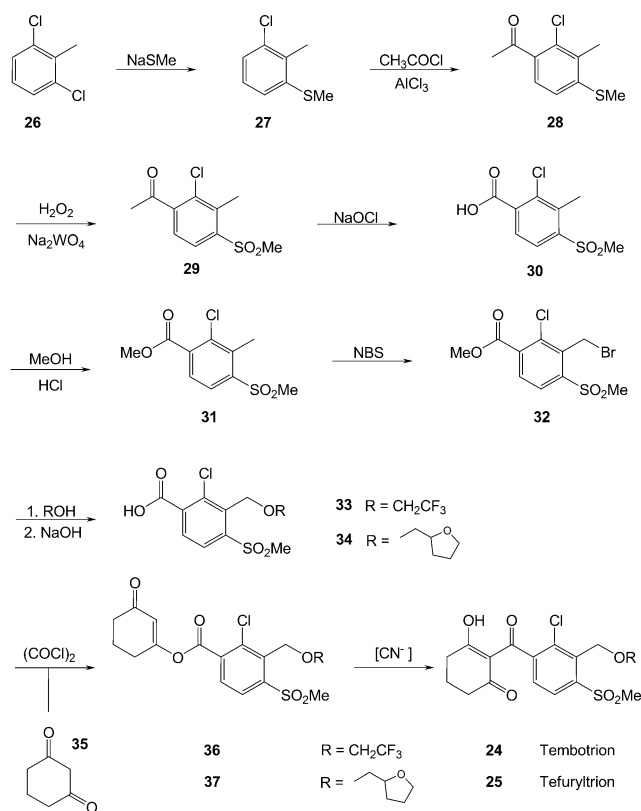
Schema 4. Synthese von Pyrasulfotol (**21**).

füßbar. Dieses Herbizid ermöglichte erstmals die HPPD-Unkrautbekämpfung im Getreideanbau (Weizen, Gerste und Triticale). Pyrasulfotol wurde 1999 durch Kombination der 2-Methansulfonyl-4-trifluormethylbenzoyl-Einheit von Isoxaflutol mit dem 5-Hydroxy-1,3-dimethylpyrazol-Heterocyclus **22** von Pyrazolinat gefunden.^[6]

Durch intensive Variation der Benzoyl-Einheit fand man bei AgrEvo (eine Vorgängergesellschaft von BCS) spezielle Seitenketten in Position 3 und entwickelte so erfolgreich die neuen Wirkstoffe Tembotrion (**24**; Schema 5) und Tefuryltrion (**25**). Seit 2007 ist Tembotrion als Herbizid zur Kontrolle von breitblättrigen Schädipflanzen und Gräsern im Maisanbau erhältlich, drei Jahre später wurde Tefuryltrion zur Kontrolle von Schädipflanzen in Reis auf den Markt gebracht.^[4,12] Die chemische Synthese dieser Verbindungen beginnt mit einer aromatischen nukleophilen Substitution im 2,6-Dichlortoluol (**26**) mit einer Methylthio-Gruppe. Eine Friedel-Crafts-Acylierung, gefolgt von einer Thioether- und Hypochlorit-Oxidation der Acetylgruppe mittels einer Haloform-Reaktion liefert die Benzoesäure **30**. Diese Verbindung kann (nach der Veresterung) unter Bedingungen, die die Radikalsubstitution begünstigen, an der Methylgruppe zu dem Schlüsselintermediat **32** bromiert werden. Dieses kann an der Benzyl-Position mit einer Vielzahl von Nukleophilen, insbesondere Alkoholen wie Trifluorethanol und (Tetrahydrofuran-2-yl)methanol substituiert werden, was nach Verseifung die neuen Benzoyl-Einheiten **33** und **34** ergibt. Abgeschlossen wird die Synthese von Tembotrion und Tefuryltrion durch die Veresterung des Säurechlorids mit 1,3-Cyclohexandion (**35**) und die Umlagerung des Enolesters (Schema 5).^[13]

Es sollte erwähnt werden, dass alle HPPD-Inhibitoren in tautomeren Formen vorliegen, wie bereits in Schema 3 für das Diketonnitril **19** gezeigt wurde.

Abbildung 5 zeigt eine Zeitachse bezüglich der bislang auf dem Markt erhältlichen HPPD-Inhibitoren.



Schema 5. Synthesen von Tembotrion (**24**) und Tefuryltrion (**25**).

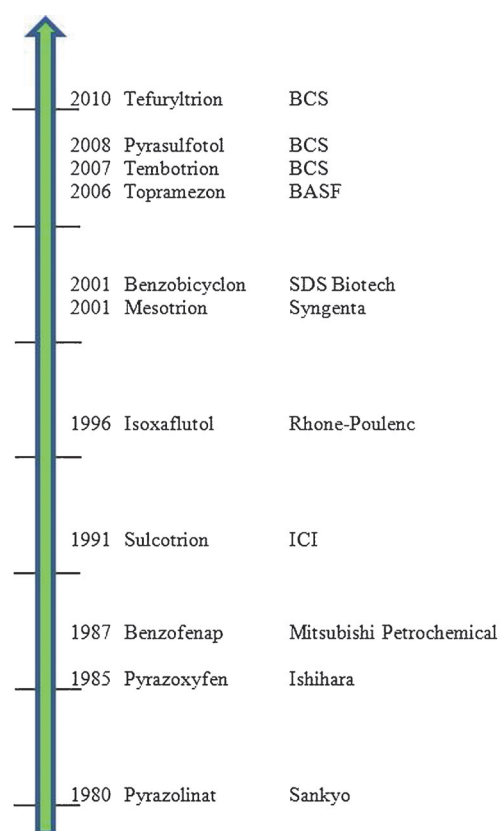
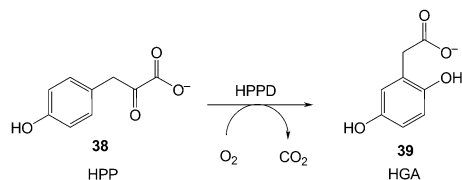


Abbildung 5. Zeitachse der HPPD-Marktprodukte.

2.2. Wirkmechanismus

Das Herbizid-Zielenzym HPPD katalysiert die oxidative Decarboxylierung und die Umlagerung von *p*-Hydroxyphenylpyruvat (HPP; **38**) zu Homogentisat (HGA) **39** (Schema 6).^[14]



Schema 6. HPPD-katalysierte Umwandlung von HPP (**38**) zu HGA (**39**).

Diese Umwandlung stellt einen frühen Schritt im Verlauf des Tyrosinabbaus dar. Noch entscheidender ist aber, dass HGA die wichtigste Vorstufe für die Biosynthese von Tocopherolen und Plastochinon ist. Tocopherole sind Antioxidantien, die für das Wachstum und die Stresstoleranz der Pflanze notwendig sind, Plastochinon ist ein wesentlicher Cofaktor bei der Photosynthese und der Biosynthese von Carotinoiden. Diese Pigmente schützen die Pflanzen vor den schädlichen Auswirkungen von Singulett-Sauerstoff, der bei starker Sonneneinstrahlung entsteht. Die Inhibition der Carotinoid-Biosynthese durch HPPD-Inhibitoren führt zu einem Ausbleichen und anschließendem Absterben der behandelten Pflanzen (Abbildung 6).^[15]

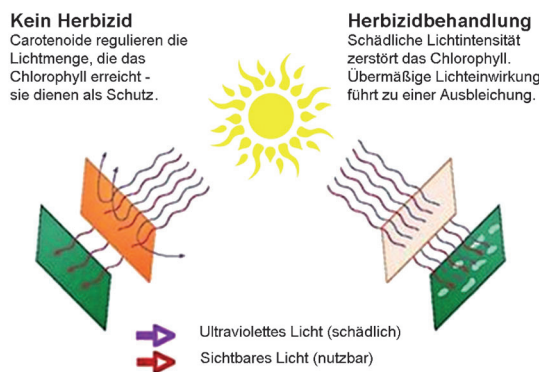


Abbildung 6. HPPD-Inhibitoren zerstören den UV-Schild der Pflanzen.

2.3. Kristallstruktur und Beziehung zwischen Struktur und Wirkung

Bei den HPPD handelt es sich um Nichteisen-Fe^{II}-haltige Dioxygenasen. Die Kristallstrukturen von HPPD zeigten, dass sie Homodimere sind.^[16,17] Die Monomere bestehen jeweils aus zwei Domänen mit ähnlicher Topologie. Die Domänen umfassen von α -Helices umgebene tonnenförmige β -Faltblätter. Das aktive Zentrum befindet sich innerhalb eines offenen, verdrehten, aus sieben β -Strängen bestehenden β -Faltblattes und enthält zwei streng konservierte Histidine und

ein Glutamat, die das katalytische Eisen halten. Dieses oktaedrisch koordinierte Eisen bindet die chelatbildenden Einheiten der HPPD-Inhibitoren und vermutlich auch die Substratsauerstoffatome im Übergangszustand (Abbildung 7). Die Haupttriebkkräfte für die Bindung der Inhibito-

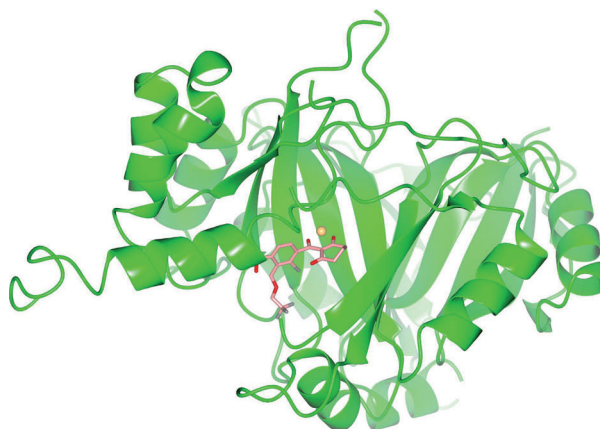


Abbildung 7. Röntgenstruktur der HPPD. Die orangefarbene Kugel zeigt die Position des Eisen-Ions an.

ren sind die Wechselwirkungen zwischen dem chelatbildenden Sauerstoff und dem katalytischen Eisen sowie das Vergraben der hydrophoben Inhibitoratome in die hydrophoben Proteintaschen. Diese beiden entscheidenden Vorgänge lassen sich bei Tembotrion gut beobachten (Abbildung 8), wo der aromatische Ring sich zwischen den Seitenketten zweier Phenylalanine befindet. Diese Abbildung stellt auch dar, dass der Substituent in 3-Position des aromatischen Rings in eine große offene Tasche zeigt, was die hohe Variabilität der Substituenten an dieser Position erklärt.

Es wurde beobachtet, dass HPPD zwei unterschiedliche Konformationen („offen“ und „geschlossen“) annehmen

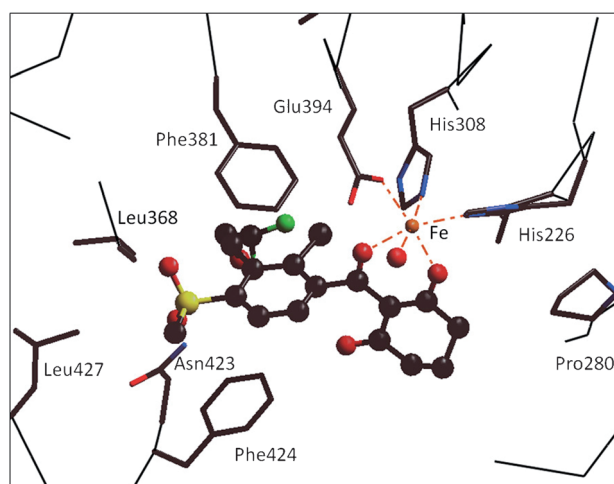


Abbildung 8. Kristallstruktur von Tembotrion mit HPPD aus *Arabidopsis thaliana*. Das aktive Zentrum besteht aus zwei streng konservierten Histidinen (His226 und His308) und einem Glutamat (Glu394), die das katalytische Eisen-Ion binden. Der aromatische Ring des Tembotrions befindet sich zwischen den Seitenketten von Phe381, Leu368, Phe424 und Leu427, was erheblich zur hydrophoben Wirkung beiträgt.

kann und Tembotrion an die offene Form bindet. Dies gilt für viele verschiedene HPPD-Inhibitor-Klassen mit einer chelatbildenden Einheit vom Cyclohexandion-, Hydroxypyrazol- oder Diketonitriltyp, was die ähnliche Beziehung zwischen Struktur und Wirkung in dieser Verbindungsklasse erklärt.

Im Allgemeinen lässt sich die Analyse der Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung in der HPPD-Chemie in zwei Teile gliedern: die Aryl- und die chelatbildende Einheit. Die chelatbildende Einheit ist für die Bindung an das aktive Zentrum des HPPD-Enzyms verantwortlich. An der Aryl-einheit werden dagegen viele verschiedene Substitutionsmuster für die Inhibierung toleriert. Sie helfen bei der Variation der physikalisch-chemischen Eigenschaften wie z. B. der Azidität und der Polarität, um eine leichte Aufnahme und den reibungslosen Transport zum Zielort zu gewährleisten. Eine besonders gute biologische Wirksamkeit fand sich bei 2,4- und 2,3,4-Benzoyl-Substitutionsmustern. An Position 2 sind Cl-, NO₂-, SO₂Me-, CF₃- und Me-Substituenten am wirkungsvollsten. An Position 4 werden Substituenten wie Halogen-, Halogenalkyl- und Alkylsulfonyl-Gruppen bevorzugt. An Position 3 ergibt eine Vielzahl von Substituenten wie Heterocyclen, Alkoxy-, Alkylsulfonyl- oder Halogenalkoxyalkyl-Gruppen wirksame Herbizide. Auch der spezielle Metabolismus bzw. dessen Fehlen modifiziert die Herbizidwirkung eines Inhibitors. Die Metabolisierung der Cyclohexandion-Einheit in der Pflanze führt beispielsweise zu einer Entgiftung des Herbizids. Eine Substitution an dieser Einheit kann diese Metabolisierung blockieren und so die Herbizidwirkung verstärken.^[4]

3. Entdeckung der Safener

3.1. Überblick über die Entdeckung der Safener

Die Safener-Forschung begann nach einer zufälligen Beobachtung von Otto Hoffmann im Jahr 1947. Als Herbizidforscher bei der Gulf Oil Company war ihm aufgefallen, dass Tomatenpflanzen Schäden aufwiesen, die seines Erachtens von dem durch die Dampfströmung im warmen Gewächshaus verbreiteten Unkrautvernichtungsmittel 2,4-D stammten. Zuvor mit 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure behandelte Pflanzen schienen jedoch vor diesen Schäden geschützt zu sein.^[18] Das durch diese Beobachtung angestoßene Forschungsprogramm zu Herbizid-Safenern führte schließlich zu 1,8-Naphthalindicarbonsäureanhydrid, einem Safener zur Behandlung von Maissaatgut. In den auf die Entdeckung von 1,8-Naphthalindicarbonsäureanhydrid folgenden Jahren legten verschiedene Unternehmen Forschungsprogramme auf, welche zu kommerzialisierten Safenern führten (Abbildung 9). Diese frühe Forschung fand zunächst weitere Verbindungen zur Saatgutbehandlung und identifizierte anschließend Safener, welche zur Bodenbehandlung zusammen mit Voraufbau-Herbiziden verwendet werden konnten. All diese Safener eigneten sich für den Einsatz bei einkeimblättrigen Nutzpflanzen.

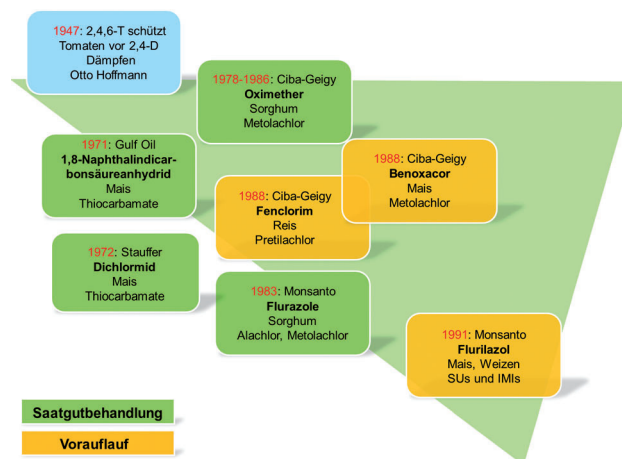


Abbildung 9. Erste im Handel erhältliche Safener zur Saatgutbehandlung und für den Voraufbau.

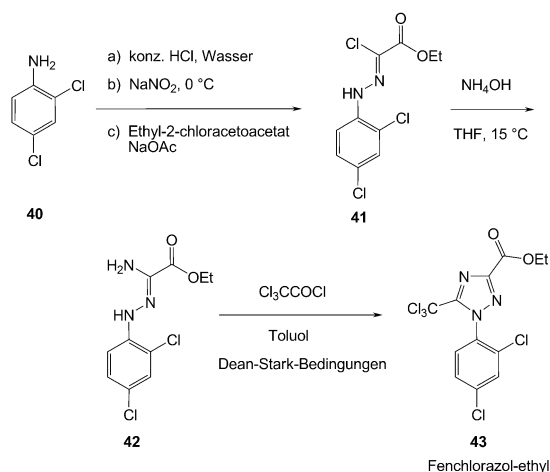
3.2. Safener-Entdeckung bei Bayer

3.2.1. Fenchlorazol-ethyl und Mefenpyr-diethyl

Um die volle Selektivität in Nutzpflanzen einiger der hochwirksamen HPPD-Herbizide zu erreichen, war der Einsatz von Safener-haltigen Produkten notwendig. Von den Vorgängergesellschaften von BCS legte nur die Agroparte der Hoechst AG (später AgrEvo, dann Aventis CropScience) systematische Synthese- und Screeningprogramme für Safener auf. Dieses Projekt begann Ende der 70er Jahre. Da die damals existierenden Safener zur Boden- und Saatgutbehandlung vorgesehen waren, galt das Konzept eines Safeners, der seine Wirkung über die Blätter entfaltet, als äußerst attraktiv. Ziel war der Schutz der Getreidepflanzen vor im Nachauflauf genutzten ACCase-inhibierenden Herbiziden (insbesondere Fenoxapropethyl). Die physikalisch-chemischen Eigenschaften blattaktiver Safener müssten sich dabei von denen der bodenaktiven Verbindungen unterscheiden und Systematizitätsmerkmale aufweisen, die sich an denen der entsprechenden blattwirksamen Herbizide ausrichteten.

Zur Testung ihrer Wirksamkeit als Safener wurden verschiedene Verbindungen im Nachauflauf auf Weizenpflanzen gesprüht, die anschließend mit Fenoxaprop-ethyl behandelt wurden. Gefundene Verbindungen, die Schäden reduzierten, wurden in Zweit- und Dritttests weitergeleitet, welche weitere Aufwandsmengen von Safener und Herbizid und auch Schadgräser enthielten, um die Aufrechterhaltung der Herbizidwirkung zu überprüfen. Dieser Ansatz ergab verschiedene Klassen von Verbindungen mit gutem Leitstrukturpotential, welche die chemische Erforschung und Optimierung rechtfertigte, die zur Entdeckung von Fenchlorazol-ethyl (**43**) führte.^[19] Ein Syntheseweg für diesen ersten Blatt-Safener ist in Schema 7 dargestellt. Das Chlorhydrazon **41** lässt sich mittels der Japp-Klingmann-Reaktion aus dem Anilin **40** und Ethyl-2-chloracetoacetat herstellen.^[20] Die Behandlung von **41** mit wässriger Ammoniaklösung ergibt Aminohydrazon **42**, das anschließend mit Trichloracetylchlorid unter Dean-Stark-Bedingungen in Fenchlorazol-ethyl (**43**) umgewandelt wird.

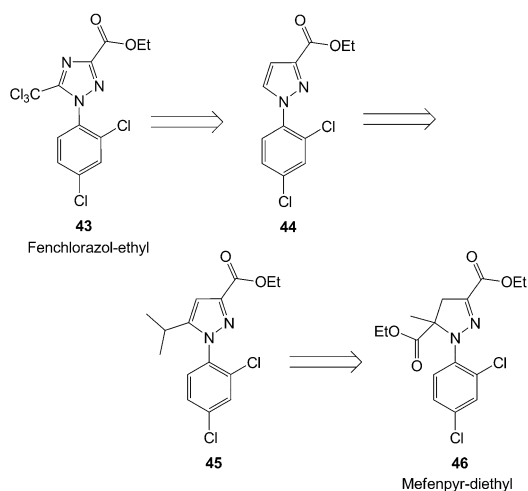
Fenchlorazol-ethyl^[21] kam 1989 in Kombination mit Fenoxaprop-ethyl unter dem Namen Puma auf den Markt. Beide



Schema 7. Synthese von Fenchlorazol-ethyl (**43**).

Ester werden von den Blättern gut aufgenommen, in der Pflanze aber rasch zu phloemmobilen Säuren verseift. Die Safener-Eigenschaften erlaubten die selektive Anwendung in Weizen und Roggen. Für eine Safener-Wirkung in Gerste war jedoch ein besserer Safener für Fenoxaprop-ethyl notwendig.

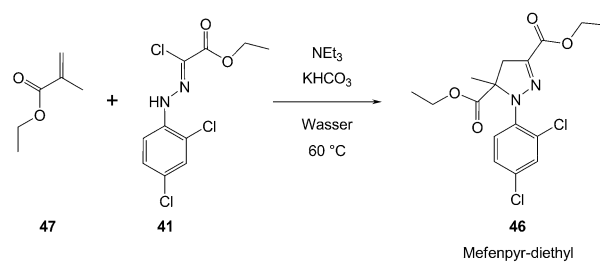
Die systematische Variation des zentralen Heterocyclenkerns (einschließlich seiner Substituenten) von Fenchlorazol-ethyl lieferte erstmals die experimentellen Pyrazol-Safener **44**^[22] und **45**^[23] sowie schließlich den im Handel erhältlichen Safener Mefenpyr-diethyl (**46**; Schema 8).^[24]



Schema 8. Von Fenchlorazol-ethyl (**43**) zu Mefenpyr-diethyl (**46**).

Ein möglicher Syntheseweg des Pyrazolinderivats Mefenpyr-diethyl, welcher auf der dipolaren [3+2]-Cycloaddition von Chlorhydrazon **41** und Ethylmethacrylat **47** in Gegenwart von Triethylamin und KHCO_3 in Wasser basiert, ist in Schema 9 dargestellt.^[25]

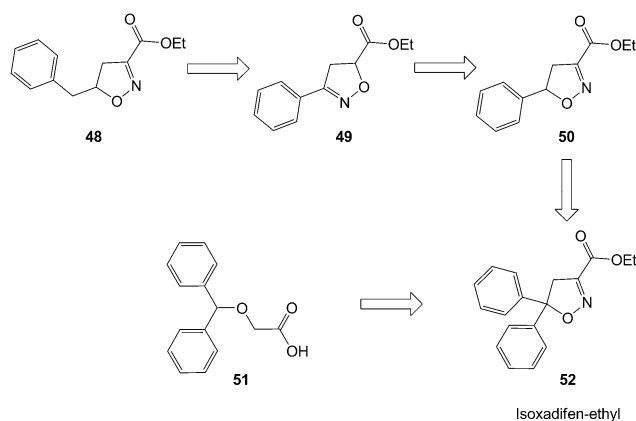
Dieser außergewöhnliche Safener ersetzte Fenchlorazol-ethyl in der Mischung mit Fenoxaprop-ethyl. Der Name Puma wurde aber beibehalten.



Schema 9. Synthese von Mefenpyr-diethyl (**46**).

3.2.2. Isoxadifen-ethyl

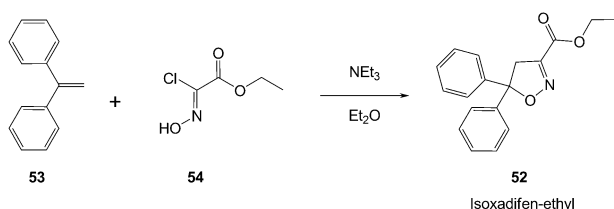
Fenoxaprop-ethyl verfügte im Nachauflauf auch gegen die üblichen Schadgräser im Reisanbau über eine gute Wirksamkeit. Der Reis wurde aber ebenfalls durch das Herbizid geschädigt. Leider war Mefenpyr-diethyl zwar in Weizen und Gerste hochwirksam, konnte aber Reis nicht gegen Fenoxaprop-ethyl oder andere verfügbare Herbizide schützen. Eine derartige Nutzpflanzenspezifität ist bei Safenern nicht ungewöhnlich.^[26] In den 90er Jahren arbeiteten Wissenschaftler bei Hoechst daher intensiv an der Identifizierung eines Blatt-Safeners zum Schutz von Reispflanzen. Wieder wurde Fenoxaprop-ethyl als Zielherbizid eingesetzt. Der Ersatz des Pyrazolin-Rings von Mefenpyr-diethyl durch einen ähnlich substituierten Isoxazolin-Ring führte zu den Safenern **48**,^[27] **49**^[28] und **50**,^[29] die jedoch keine Marktreife erlangten. Allerdings führte die Kombination aus den Strukturmerkmalen von **50** und dem experimentellen Monsanto-Safener **51**^[30] zum wirksamen Reis-Safener Isoxadifen-ethyl (**52**; Schema 10).^[31]



Schema 10. Von der Leitstruktur **48** zu Isoxadifen-ethyl (**52**).

Der Ethylester von Isoxadifen wurde aufgrund seiner guten Aufnahme durch die Blätter mit rascher Metabolisierung in der Pflanze zur systemischen Isoxadifen-Säure als stärkster Kandidat identifiziert.^[33] Im Jahr 2002 wurden Isoxadifen-ethyl und Fenoxaprop-P-ethyl (das aktive Isomer) enthaltende Produkte für den Reisanbau einschließlich Ricestar auf den Markt gebracht.

Schema 11 stellt eine einfache, einstufige Synthese von Isoxadifen-ethyl über eine bipolare [3+2]-Cycloaddition von

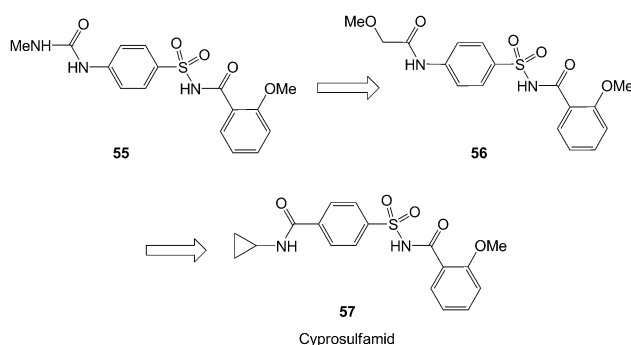


Schema 11. Synthese von Isoxadifen-ethyl (52).

Chloroxim **54**^[32] und 1,1-Diphenylethen (**53**) in Gegenwart von Triethylamin in Diethylether dar.

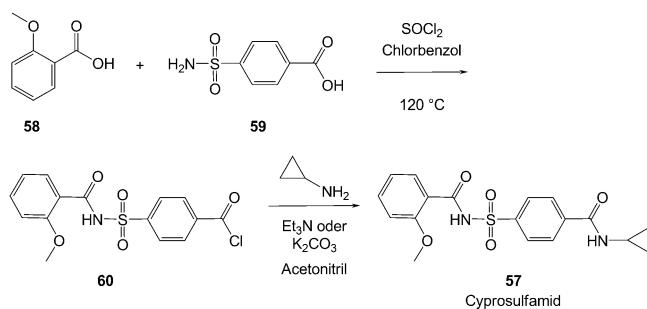
3.2.3. Cyprosulfamid

Eine im April 1990 veröffentlichte Patentanmeldung von Ciba-Geigy^[34] beanspruchte eine neuartige Klasse von Acylsulfonamid-Safenern mit hoher Wirksamkeit im Nachauflauf im Mais. AgrEvo synthetisierte und testete Beispiele dieses Patentes wie den Harnstoffsulfonamid-Safener **55**,^[34] welche die Safener-Wirkung bestätigten. Die weitere Erforschung und Optimierung ergab den experimentellen Carboxamid-Safener **56**^[35] sowie das inverse Acylsulfonamid Cyprosulfamid (**57**; Schema 12).^[36]



Schema 12. Von der Leitstruktur **55** zu Cyprosulfamid (**57**).

Durch die Behandlung von **58** und **59** mit Thionylchlorid in Chlorbenzol bei 120 °C entsteht das Säurechlorid **60**. Eine Amidkupplung mit Cyclopropylamin unter Standardbedingungen führt zu Cyprosulfamid (Schema 13).^[37]



Schema 13. Synthese von Cyprosulfamid (**57**).

3.2.4. Safener für verschiedene Nutzpflanzen und Wirkmechanismen

Mefenpyr-diethyl, Isoxadifen-ethyl und Cyprosulfamid wurden ursprünglich in Testmodellen mit nur einer Nutzpflanze und nur einem Herbizid entdeckt. In allen drei Fällen stellte sich allerdings früher oder später heraus, dass diese Verbindungen zumindest eine weitere Nutzpflanze und/oder zahlreiche weitere Herbizide mit unterschiedlichen Wirkmechanismen safen können. Dies war eine bahnbrechende Entdeckung: Es bedeutete, dass nur mit wenigen Safenern wertvolle Herbizidprodukt-Portfolios für Getreide, Mais und Reis entwickelt werden können.

Safener erhöhen die Geschwindigkeit, mit der die Pflanze das Herbizid abbaut (detoxifiziert).^[26,38] Diese Wirkung basiert auf der verstärkten Expression derjenigen Gene, die für den Abbau verantwortlichen Enzyme codieren (z. B. P450, GSTs und ABC-Transporter). Die verstärkte Expression dieser Gene lässt sich durch Messung der mRNA-Menge untersuchen. Solche Studien haben gezeigt, dass eine verstärkte Genexpression nur bei Nutzpflanzen auftritt, die auf bestimmte Safener reagieren. Da jedoch nur wenig über Safener-Rezeptoren bekannt ist, fällt die Erklärung, warum manche Pflanzen auf Safener reagieren und andere (auch Schadpflanzen) nicht, schwer. Andererseits erklären die durch verschiedene Safener ausgelösten Genexpressionsmuster, warum bei vielen Herbiziden ein Schutz durch Safener möglich ist: Herbizide mit unterschiedlichem Wirkmechanismus werden möglicherweise in den Pflanzen auf ähnliche Weise metabolisiert.

4. Produktlösungen, die HPPDs und Safener miteinander verbinden

Zwar wurden Safener ursprünglich nicht zum Schutz vor HPPD-Inhibitoren entwickelt, doch die modernen Multiwirkmechanismus-Safener von BCS sind hervorragende Selektivitäts-Tools für diese Herbizidklasse. Es ist allerdings zu einfach zu glauben, dass bei jedem HPPD-Inhibitor ein 100%iger Schutz vor Phytotoxizität möglich ist. Bei bestimmten HPPD-Verbindungen ist kein Schutz möglich, bei anderen nur ein teilweiser und bei einigen ein kompletter. Da der Grad der Herbizidaktivität im Gewächshaus anders sein kann als auf dem Feld (z.B. in Abhängigkeit von Licht und Bodenbeschaffenheit), variieren unter Umständen auch die jeweils notwendigen Aufwandsmengen an Safener. Darüber hinaus reagieren die unterschiedlichen Nutzpflanzensorten möglicherweise unterschiedlich auf das Herbizid und/oder den Safener. All das bedeutet einen hohen Aufwand an Gewächshaus- und Feldversuchen, um die beste Verbindung für die Entwicklung zu identifizieren. Wie in Abbildung 10 dargestellt, ist jedoch im besten Fall sogar bei HPPD-Inhibitoren mit starker Phytotoxizität ein vollständiger und dauerhafter Schutz möglich.

Es gibt Lösungen für Vor- und Nachauflaufbehandlungen. Landwirte kennen sich für gewöhnlich mit den Problemen bei der Kontrolle von Schadpflanzen bei den verschiedenen Nutzpflanzen auf ihren Feldern gut aus. Sie wählen die Herbizide zur Aufbringung vor (Voraufbau) oder nach (Nach-

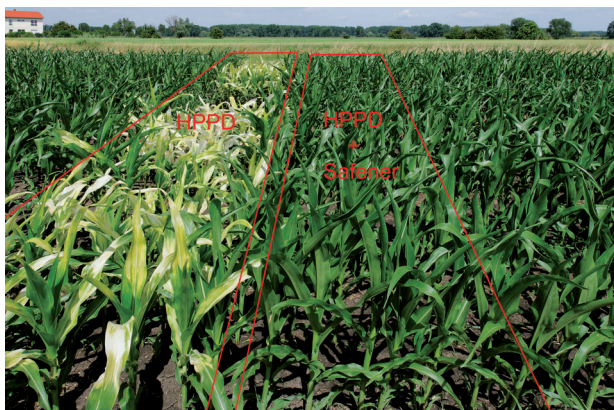


Abbildung 10. Feldversuche mit HPPD-Inhibitoren mit und ohne Safener.

auflauf) Auflauf der jeweiligen Nutzpflanze basierend auf einer Reihe agrarwissenschaftlicher Faktoren aus. Sind Herbizide z.B. für die Vor- oder Nachauflauf Kontrolle von Schadpflanzern auf dem Feld gegenwärtig überhaupt erhältlich? Hat der Landwirt zwischen dem Säen und dem Auflauf der Nutzpflanzen die Zeit, die Felder im Voraufbau zu besprühen? Außerdem, reicht die Voraufbaubehandlung für die gesamte Saison aus oder sind nachfolgende Nachauflaufbehandlungen notwendig? Der Landwirt muss entscheiden, welches Programm für seine individuelle Situation die kostenwirksamste Schadpflanzerkontrolle bietet. Das kann sich ändern, wenn die agrarwissenschaftliche Forschung neue Möglichkeiten liefert.

4.1. Isoxaflutol und Cyprosulfamid im Mais

Ende der 90er Jahre identifizierte Rhone-Poulenc Agriculture bezüglich ihres Voraufbaufherbizids Isoxaflutol im Mais ein Selektivitätsproblem. Bei der früher empfohlenen Aufwandmenge von etwa 100 g a.i./ha dieses Herbizids (Merlin oder Balance) war zwar eine hervorragende Bekämpfung von breitblättrigen Schadpflanzern und Gräsern möglich, beim Mais wurden jedoch unter bestimmten Bedingungen Schäden beobachtet. Durch Senkung der Dosis (ca. 75 g a.i./ha) wurde dieses Problem gelöst, die Schadpflanzerbekämpfung war aber teilweise unzureichend. Nach dem Zusammenschluss von AgrEvo und Rhone-Poulenc Agriculture zu Aventis CropScience im Jahr 1999 nahm man sich dieses Problems an, indem der „Backkatalog“ der AgrEvo-Safener mit Isoxaflutol im Voraufbau im Mais getestet wurde. Dabei stellte sich heraus, dass weder Mefenpyr-diethyl noch Isoxadifen-ethyl (oder deren Säure) wirksam, dafür aber die Acylsulfonamide (siehe Abschnitt 3.3) von großem Interesse waren. Es waren diese Gewächshaus- und Feldversuche, in welchen Cyprosulfamid als wirksamste Verbindung identifiziert wurde. Die Kombination aus Isoxaflutol und Cyprosulfamid wurde von Aventis CropScience und Bayer CropScience entwickelt und 2009 auf den Markt gebracht. Merlin und Balance wurden durch Merlin Flexx und Balance Flexx ersetzt, um die „Zusatzdosis“ Flexibilität zu signalisieren, die Cyprosulfamid bietet. Ein Beispiel für diese

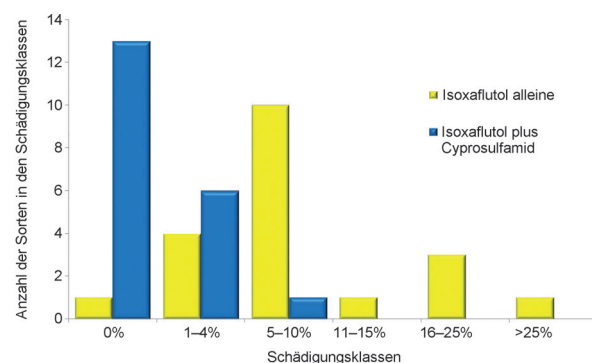


Abbildung 11. Maisschäden im Voraufbau bei 100 g a.i./ha Isoxaflutol ohne und mit 50 g a.i./ha Cyprosulfamid.

Wirkung ist in Abbildung 11 dargestellt. Darin werden die allein durch Isoxaflutol im Voraufbau hervorgerufenen inakzeptabel hohen Schäden (> 10 %) bei sämtlichen Maissorten durch Zusatz von Cyprosulfamid auf ein annehmbares Maß reduziert. Genau so gut wie bei diesen Voraufbaueffekten erlaubt Cyprosulfamid auch die sichere Anwendung von Isoxaflutol im frühen Nachauflauf.

Nachdem Aventis CropScience 2002 von Bayer übernommen worden war, entwickelte Bayer außerdem den ALS-Inhibitor Thiencarbazon-methyl (61; Abbildung 12) für den Maisanbau in Kombination mit Isoxaflutol und dem Safener Cyprosulfamid. Diese „Drei-Wege-Innovation“ ist heute als Adengo und Corvus im Handel erhältlich.

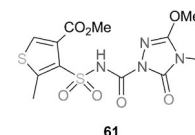


Abbildung 12. Struktur von Thiencarbazon-methyl (61).

4.2. Tembotrion und Isoxadifen-ethyl beim Maisanbau

Was Tembotrion auszeichnet, ist die Kontrolle eines breiten Spektrums an breitblättrigen Schadpflanzern und Gräsern kombiniert mit einer herausragenden Selektivität in Mais in Kombination mit dem Safener Isoxadifen-ethyl. Mit einer empfohlenen Dosis von 75 bis 100 g a.i./ha Tembotrion lassen sich gewöhnliche Schadgräser wie Ackerfuchsschwanz und *Eriochloa villosa*, aber auch die widerstandsfähigsten breitblättrigen Arten, einschließlich Glyphosat-, ALS- oder Dicamba-resistenten Schadpflanzern gut bekämpfen. Obwohl Tembotrion vorwiegend im Nachauflauf wirksam ist, bleibt die Verbindung während der gesamten Wachstumsperiode im Boden relativ aktiv. Dies erlaubt eine gewisse Residualkontrolle der Schadpflanzern bis diese durch den wachsenden Mais dauerhaft schattiert werden, ohne die Möglichkeiten der Fruchtfolge wie Sojabohnen oder andere Nutzpflanzen für die nachfolgende Saison einzuschränken.^[11]

Bezüglich der Maisselektivität zeigt Abbildung 13, wie Tembotrion allein sensible Sorten in hohem Maße schädigen kann. In der Tabelle ist aber auch dargestellt, dass der Zusatz von Isoxadifen-ethyl im Verhältnis 2:1 diese Fruchtschäden bei allen Sorten auf ein akzeptables Maß ($\leq 10\%$) senkt. Aus diesem Grund enthalten die Tembotrion-Produkte (Laudis

Tembotrion im Sortenversuch 2001:

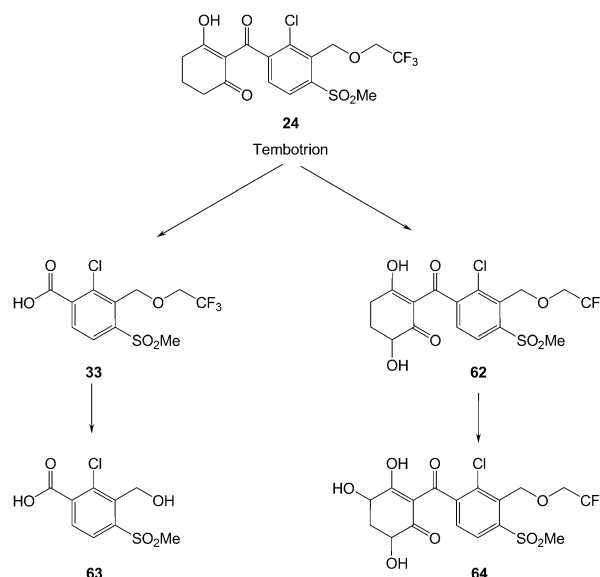
Behandlung	Tembotrion + Isoxadifen	Tembotrion
Variety	300 + 150 g	300 g
AAW 911	0	0
Arsenal	0	0
Calas	0	0
DK 242	0	0
Early Star	0	0
Erebus	0	0
Eurostar	0	0
Fjord	0	0
Gamma	0	0
Komet	0	0
Liberal	0	0
Magister	0	0
Marshall	0	0
Olivia	0	0
Palermo	0	0
Pernel	0	0
Prinz	0	0
Rhodos	0	0
Ricardo	0	0
Rivaldo	0	0
RPG 803	0	0
RUZ 931	0	0
Sombrero	0	0
Sponsor	0	0
Turkis	0	0
Anjou 235	0	5
Carerra	0	5
Monumental	0	5
Romario	0	5
RUZ 0215	0	5
Total	0	5
Agadir	0	10
Akimal	0	10
Aligator	0	10
Argument	0	10
Asket	0	10

0	keine Phytotoxizität	10-15	10 - 15 % Phytotoxizität
5	5 % Phytotoxizität	20-50	20 - 50 % Phytotoxizität

Abbildung 13. Tembotrion bei verschiedenen Maissorten mit und ohne Isoxadifen-ethyl.

Beispiel: Standort Gersthofen, 71 Sorten

Behandlung	Tembotrion + Isoxadifen	Tembotrion
Variety	300 + 150 g	300 g
AW 907	0	10
Batz	0	10
Belfor	0	10
Benicia	0	10
Diplomat	0	10
DK 267	0	10
DK 272	0	10
Elebor	5	10
Fanion	0	10
Fernando	0	10
Gavott	0	10
Gomera	0	10
Helix	0	10
Ilias	0	10
List	0	10
Roxane	0	10
Ruperto	0	10
RUZ 0102	0	10
RUZ 0206	0	10
SM 88018	0	10
Splendor	0	10
Symphony	10	10
Trisol	0	10
Anjou 285	0	15
DK 225	0	15
Aldus	0	20
Banguy	10	20
Nicco	0	20
Orient	0	20
Parsival	0	20
Transal	0	20
Cargiles	0	30
Cargivolt	0	30
Golda	0	30
Lorenzo	0	50

**Schema 14.** Metabolismus von Tembotrion in Pflanzen.

nation aus Pyrasulfotol und Bromoxynil weist z.B. eine eindeutig synergistische Wirkung auf, sodass sich damit auch die widerstandsfähigsten breitblättrigen Schadpflanzen wie *Kochia scoparia*, *Salsola iberica*, *Lactuca serriola* und *Polygonum convolvulus* kontrollieren lassen.^[6]

Obwohl Pyrasulfotol ein typisches Breitblatt-Herbizid mit stark begrenzter Wirkung auf Gräser ist, ist die Verbindung alleine leider nicht ausreichend sicher für Getreide. Die Toleranz von Weizen gegenüber Pyrasulfotol ist jedoch weitaus größer als z.B. die von Schadpflanzen wie der Vogelmiere. Der Unterschied basiert auf einer erheblich schnelleren Metabolisierung in Weizen. Hauptmetabolit in Pflanzen ist die nicht herbizidaktive Benzoesäure **13**. Die etwas geringere Metabolismusrate in den Nutzpflanzen lässt sich durch Kombination mit dem richtigen Safener, in diesem Fall Mefenpyr-diethyl beschleunigen.^[40] Die Pflanzenverträglichkeit ist dann für alle Sorten und für die volle Aufwandmenge garantiert. Wie bei Tembotrion gibt es keine Beschränkungen bei der Fruchtfolge, und – für den Landwirt ebenfalls sehr wichtig – Pyrasulfotol kann im Tank mit einer Vielzahl von Produkten zur Bekämpfung von Schadgräsern beim Getreideanbau gemischt werden, was zu einer hervorragenden Kompatibilität und Flexibilität führt. Darüber hinaus hat BCS Produkte entwickelt, die zusätzlich als Coformulierung eine Gräser kontrollierende Komponente wie Fenoxaprop-P-ethyl enthalten. In Kombination mit Puma (Fenoxaprop-P-ethyl plus Mefenpyr-diethyl) arbeitet der Safener interessanterweise für beide Herbizide.

Die Markteinführung von Pyrasulfotol erfolgte 2008 in den USA unter dem Handelsnamen Huskie, in Kanada unter Infinity und in Australien unter Velocity (allesamt Mischungen aus Pyrasulfotol, Bromoxynil und Mefenpyr-diethyl). In Südafrika wurde dasselbe Produkt 2011 als Resolve auf den Markt gebracht. Weitere Produkte mit Pyrasulfotol sind Precept (Pyrasulfotol, MCPA und Mefenpyr-diethyl), Wolverine und Tundra (Fenoxaprop-P-ethyl, Pyrasulfotol, Bromoxynil und Mefenpyr-diethyl) sowie Velocity M3 (Thi-

und Soberan) den Safener Isoxadifen-ethyl im Verhältnis 2:1. Demzufolge bieten die Produkte ein hohes Maß an Flexibilität für den Maislandwirt, der sich keine Gedanken darüber machen muss, welche Sorte er anbauen kann. Wie in dem Beispiel mit Isoxaflutol plus Cyprosulfamid, kann auch Tembotrion zusammen mit dem Safener in derjenigen Dosis angewendet werden, die für die Bekämpfung eines breiteren Spektrums an Schadpflanzen, insbesondere Gräsern notwendig ist.

Schema 14 zeigt den Metabolismus von Tembotrion in Pflanzen. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Abbau bei Mais in Gegenwart von Isoxadifen-ethyl wesentlich schneller abläuft.^[39] Diese Studien zeigten auch, dass die Metabolismusrate bei den für Tembotrion anfälligen breitblättrigen Schadpflanzen und Gräsern nicht beeinflusst wurde.

4.3. Pyrasulfotol und Mefenpyr-diethyl beim Getreideanbau

Mehr als 20 Jahre lang gab es keine Fortschritte bei der Entwicklung neuer Wirkmechanismen zur Bekämpfung von breitblättrigen Schadpflanzen im Getreideanbau. Dies änderte sich 2008 mit der Einführung von Pyrasulfotol. Dieser HPPD-Inhibitor wird als innovatives Werkzeug beim Resistenzmanagement eingesetzt und erlaubt die wirksame Anwendung im Nachauflauf in allen Weizen-, Gerste- und Triticale-Sorten. Die Aufbringung von 25–50 g a.i./ha ermöglicht eine zuverlässige Kontrolle von Schadpflanzen, insbesondere in Mischungen mit Photosystem-II-Inhibitoren. Die Kombi-

encarbazon, Pyrasulfotol, Bromoxynil und Mefenpyr-die-thyl).

5. Ausblick

Wie bereits erwähnt, sehen sich viele wichtige Herbizidklassen erheblichen Problemen im Hinblick auf resistente Unkrautarten gegenüber, was einen der Hauptantriebe der aktuellen Herbizidforschung darstellt. Zur Überwindung der Resistenz sind entweder neue Herbizide mit neuen Wirkmechanismen oder neue Verbindungsklassen bereits bekannter Wirkmechanismen notwendig. Es wurden bereits verschiedene Ansätze zur Identifizierung neuer Verbindungsklassen für HPPD getestet. Die Erfahrung hat gezeigt, dass ein Hochdurchsatz-Screening mittels biochemischer Assays oftmals zu schwach bindenden, hydrophoben Leitstrukturen mit hohem Molekulargewicht führt. Alternativ können zur Entwicklung neuer Strukturklassen, die zu stärker polaren Verbindungen führen, zunächst Fragmente verwendet werden, an die anschließend lipophile Bestandteile addiert werden. Frühere Ergebnisse einer Studie „SAR durch Kristallographie“ zeigten den Vorteil polarer Fragmente als Ausgangspunkte sowie die Bedeutung eines vollständigen Wasserstoffbrückennetzwerks.^[41] Daher bestand die Strategie bei BCS darin, zunächst die polaren Fragmente zu identifizieren und an-

schließend in einem zweiten Schritt zur Steigerung der Affinität hydrophobe Substituenten zu addieren. Daher enthielt die BCS-Fragmentbibliothek vorwiegend stark wasserlösliche polare Verbindungen, die ein Screening mittels der bewährten biochemischen Assays in höherer Konzentration zum Nachweis der Fragmentbindung erlaubten.

Die in Abschnitt 2.3 beschriebene HPPD-Bindungstasche, die Bindungsstellen für spezifische polare Gruppen und apolare Substituenten enthält, ist für diesen Fragmentansatz ideal. Die besten Fragmente wurden mithilfe eines kürzlich etablierten Enzymbindungsassays identifiziert.^[42] Insgesamt wurden 82 Fragmente mit einem Molekulargewicht von weniger als 200 kDs gefunden, die eine signifikante HPPD-Inhibition zeigen. Abbildung 14 zeigt eine Auswahl an A) Fragmenten, die sich an HPPD binden, und B) chelatbildenden Fragmenten, die HPPD nicht hemmen. Interessanterweise sind alle bindenden Fragmente potentielle Chelatoren und schließen die Fragmente bekannter Inhibitorklassen wie 1,3-Cyclohexandion ein. Die anschließende Erweiterung verschiedener Fragmente basierend auf den HPPD-Kristallstrukturen führte zu einer Reihe neuer Inhibitorklassen. Abbildung 15 zeigt beispielhaft die Kristallstruktur von HPPD aus *Arabidopsis thaliana* in einem Komplex mit einem neuen HPPD-Inhibitor, der eine Kombination aus einem heterocyclischen Fragment und der Benzoyleinheit von Isoxaflutol darstellt. Derzeit werden weitere Untersuchungen durchgeführt.

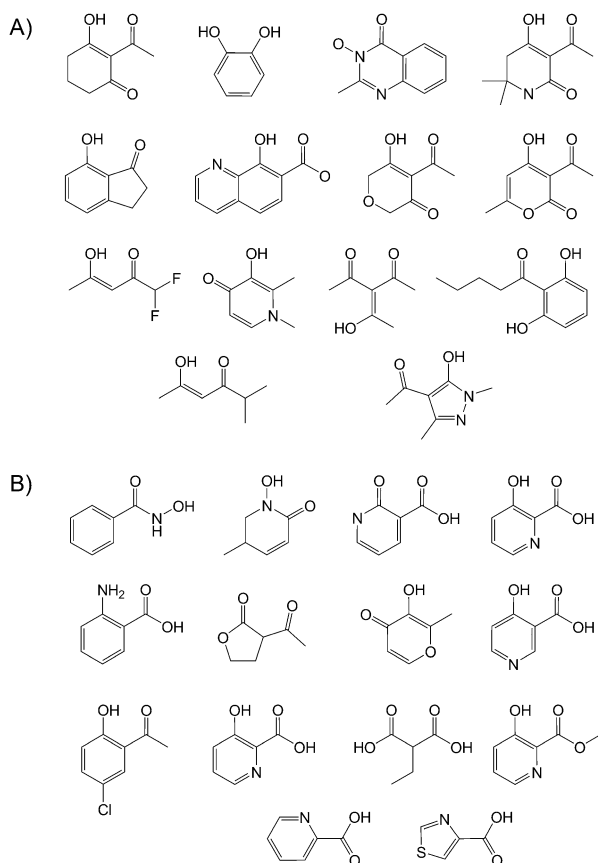


Abbildung 14. Hochkonzentrations-Screening erlaubt die Differenzierung zwischen chelatbildenden Fragmenten, die an HPPD binden (A), und solchen, die nicht an HPPD binden (B).

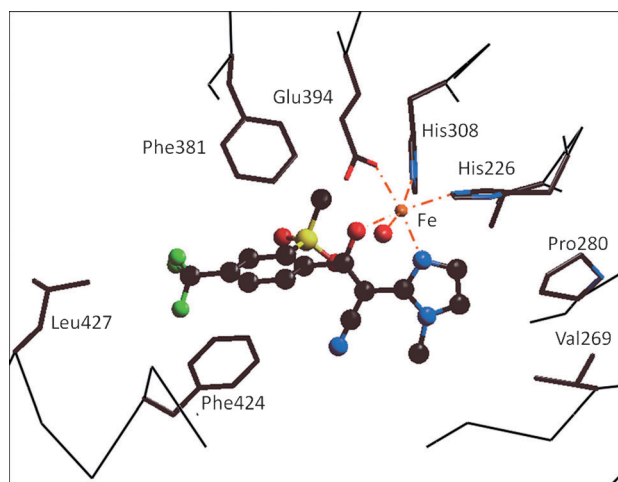


Abbildung 15. Kristallstruktur von HPPD aus *A. thaliana* in einem Komplex mit einem neuen HPPD-Inhibitor aus dem Fragmentansatz. Die Struktur zeigt, dass dieser neuartige Chelatbildner mit der HPPD aus *Arabidopsis thaliana* ganz ähnlich interagiert wie Tembotrion.

Parallel zur Entdeckung neuer HPPD-Verbindungsklassen wird auch die Forschung mit Blick auf neue Safener fortgesetzt. Als Alternative für den Schutz von Nutzpflanzen vor der Herbizidwirkung von HPPD-Inhibitoren wurde jedoch mit der Analyse und Entwicklung einer GM-Herbizidtoleranz begonnen.^[42]

Eingegangen am 20. März 2013
Online veröffentlicht am 26. Juli 2013

- [1] E.-C. Oerke, *J. Agric. Sci.* **2006**, *144*, 31–43.
- [2] S. O. Duke, S. B. Powles, *Pest Manage. Sci.* **2008**, *64*, 319–325.
- [3] „Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants“: S. B. Powles, C. Preston, online internet, November 16, **2012**, Available <http://www.hracglobal.com/Publications>.
- [4] A. Edmunds, J. Morris, A. van Almsick in *Modern Crop Protection Compounds*, 2nd ed., Vol. 1 (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 235–258 und 262–275.
- [5] a) T. Konotsune, K. Kawakubo, JP 50126830, DE 2513750, GB 1463473, **1975**; b) N. Nishiyama, F. Kimura, T. Haga, N. Sakashita, T. Nishikawa, GB 2002375, **1979**.
- [6] M. H. Schmitt, A. van Almsick, L. Willms, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer* **2008**, *61*, 7–14.
- [7] R. Beaudegnies, A. J. F. Edmunds, T. E. M. Fraser, R. G. Hall, T. R. Hawkes, G. Mitchell, J. Schaetzer, S. Wendeborn, J. Wibley, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4134–4152.
- [8] D. L. Lee, C. G. Knudsen, W. J. Michaely, H.-L. Chin, N. H. Nguyen, C. G. Carter, T. H. Cromartie, B. H. Lake, J. M. Shribbs, T. Fraser, *Pestic. Sci.* **1998**, *54*, 377–384.
- [9] P. A. Cain, S. M. Cramp, G. M. Little, B. M. Luscombe, EP 0527036, **1993**.
- [10] E. Beltran, H. Fenet, J. F. Cooper, C. M. Costle, *Pest Manage. Sci.* **2001**, *57*, 366–371.
- [11] K. Grossmann, T. Ehrhardt, *Pest Manage. Sci.* **2007**, *63*, 429–439.
- [12] A. vanAlmsick, J. Benet-Buchholz, B. Olenik, L. Willms, *Bayer CropSci. J.* **2009**, *62*, 5–16.
- [13] A. vanAlmsick, L. Willms, T. Auler, H. Bieringer, C. Rosinger, WO 00/21924, **2000**.
- [14] C. Raspail, M. Graindorge, Y. Moreau, S. Crouzy, B. Lefèbvre, A. Y. Robin, R. Dumas, M. Matringe, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 26061–26070.
- [15] a) A. Schulz, O. Ort, P. Beyer, H. Kleinig, *Fed. Eur. Biochem. Soc.* **1993**, *318*, 162–166; b) T. R. Hawkes, *Modern Crop Protection Compounds*, 1st ed., Vol. 1 (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer), Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 211–221.
- [16] I. M. Fritze, L. Linden, J. Freigang, G. Auerbach, R. Hubert, S. Steinbacher, *Plant Physiol.* **2004**, *134*, 1388–1400.
- [17] J. Freigang, B. Laber, G. Lange, A. Schulz, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **2008**, *61*, 15–28.
- [18] O. Hoffmann, *Plant Physiol.* **1953**, *28*, 622–628.
- [19] G. Heubach, K. Bauer, H. Bieringer, EP 0174562, **1986**.
- [20] A. S. A. S. Shawali, A. Osman, *Tetrahedron* **1971**, *27*, 2517.
- [21] H. Bieringer, K. Bauer, E. Hacker, G. Heubach, K. H. Leist, E. Ebbert, *Proc. Brighton Crop Pro. Conf.* **1989**, 77–82.
- [22] E. Sohn, R. Handte, H. Mildenerger, H. Bürstell, K. Bauer, H. Bieringer, EP 0269806, **1988**.
- [23] E. Sohn, H. Mildenerger, K. Bauer, H. Bieringer, DE 3808896, **1989**.
- [24] a) W. Rösch, E. Sohn, K. Bauer, H. Bieringer, WO 199107874, **1991**; b) E. Hacker, H. Bieringer, L. Willms, O. Ort, H. Koecher, H. Kehne, *Proc. Brighton Crop Pro. Conf.* **1999**, 15–22.
- [25] G. Schlegel, WO 199912909, **1999**.
- [26] C. Rosinger, K. Bartsch, W. Schulte in *Modern Crop Protection Compounds*, 2nd ed., Vol. 1 (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 371–397.
- [27] H.-J. Löher, W. Schwab, K. Bauer, H. Bieringer, WO 199108202, **1991**.
- [28] H.-J. Löher, K. Bauer, H. Bieringer, DE 4026018, **1992**.
- [29] H.-J. Löher, K. Bauer, H. Bieringer, EP 0509433, **1992**.
- [30] L. H. Brannigan, R. J. Brinker, R. J. Kaufman, S. Metz, US4964893, **1990**.
- [31] L. Willms, K. Bauer, H. Bieringer, WO 199507897, **1995**.
- [32] W. Vaughan, J. L. Spencer, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *25*, 1160–1164.
- [33] a) B. Collins, D. Drexler, M. Merkl, E. Hacker, H. Hagemeister, K. Pallett, C. Effertz, *Proc. Brighton Crop Prot. Conf.* **2001**, S. 35–42; b) K. Pallett, P. Veerasekaran, M. Crudace, H. Koecher, B. Collins, *Proc. NCWSS Conf.* **2001**, Abstract 77; c) E. Hacker, H. Bieringer, L. Willms, G. Schnabel, H. Koecher, H. Hagemeister, W. Steinheuer, *Z. Pflanz. Pflanzenschutz Sonderheft XVIII* **2002**, S. 747–756.
- [34] U. Burckhardt, R. Soliman, W. Töpfl, H.-R. Wäspe, EP 365484, **1990**.
- [35] F. Ziemer, K. Haaf, L. Willms, K. Bauer, H. Bieringer, C. Rosinger, WO 199745016, **1997**.
- [36] F. Ziemer, L. Willms, T. Auler, H. Bieringer, C. Rosinger, WO 199916744, **1999**.
- [37] S. Pazenok, M. J. Ford, G. Schlegel, EP 1491527, **2004**.
- [38] D. Riechers, K. Kreuz, Q. Zhang, *Plant Physiol.* **2010**, *153*, 3–13.
- [39] W. Schulte, H. Köcher, *Bayer CropSci. J.* **2009**, *62*, 35–52.
- [40] W. Schulte, H. Köcher, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **2008**, *61*, 29–42.
- [41] G. Lange, D. Lesuisse, P. Deprez, B. Schoot, P. Loenze, D. Bénard, J.-P. Marquette, P. Broto, E. Sarubbi, E. Mandine, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5184–5195.
- [42] G. Lange, P. Fabien, B. Laber, F. Jörg, A. Schulz, EP 2453012, **2012**.