

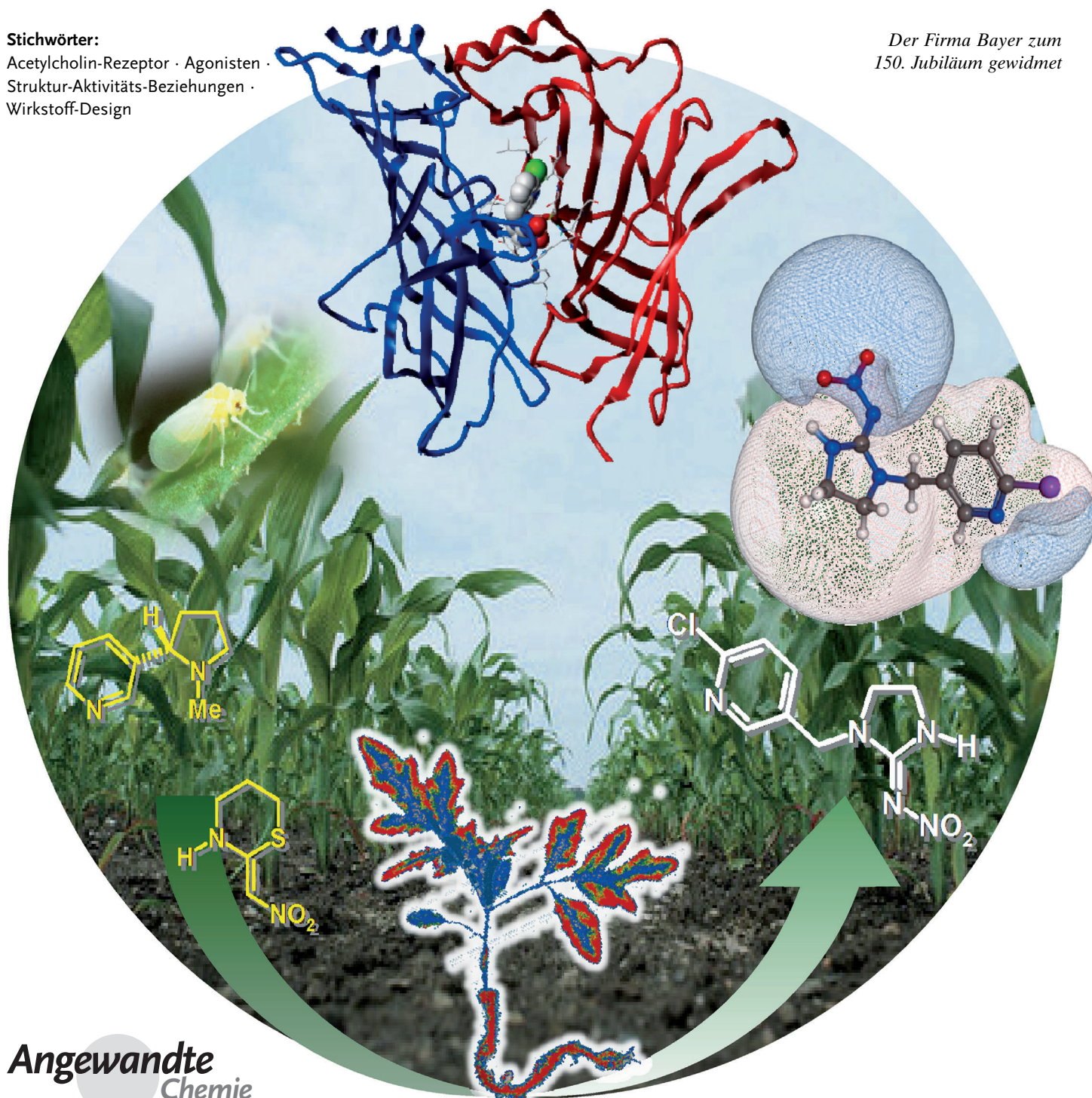
Nicotinische Acetylcholinrezeptor-Agonisten: ein Meilenstein für den modernen Pflanzenschutz**

Peter Jeschke,* Ralf Nauen und Michael Edmund Beck

Stichwörter:

Acetylcholin-Rezeptor · Agonisten ·
Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ·
Wirkstoff-Design

Der Firma Bayer zum
150. Jubiläum gewidmet



Die Schädigung von Nutzpflanzen durch wirbellose Schädlinge ist eine große Bedrohung vor dem Hintergrund des kontinuierlich steigenden Nahrungsbedarfs einer wachsenden Weltbevölkerung. Daher sind effiziente Pflanzenschutzmaßnahmen in der breiten Vielfalt der landwirtschaftlichen Produktion von größter Bedeutung für nachhaltige Erträge. Die Entdeckung synthetischer Agonisten, die selektiv an nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren (nAChR) im Zentralnervensystem von Schadinsekten wirken und als Insektizide Verwendung finden, war ein Meilenstein in der angewandten Pflanzenschutzforschung. Diese Verbindungen läuten wegen ihrer hohen Spezifität am aktiven Zentrum und Vielseitigkeit in der Anwendung eine neue Ära der Bekämpfung einiger der weltweit schwerwiegendsten Schadinsekten ein. Diese Insektizide haben nicht nur Bedeutung als Insektenbekämpfungsmittel in der Landwirtschaft, sie haben auch unsere Kenntnisse über die Biochemie der nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren von Insekten enorm erweitert. Der globale wirtschaftliche Erfolg der synthetischen nAChR-Agonisten als Insektizide macht den nicotinischen Acetylcholin-Rezeptor immer noch zu einem der vielversprechendsten Ziele für die Insektizidforschung.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	9641
2. Kommerzielle Agonisten	9645
3. Bedeutung selektiver Insektizide	9647
4. Nicotinische Acetylcholin-Rezeptoren	9648
5. Biologisches Profil und Anwendungsaspekte	9651
6. Phytotonische Wirkungen	9652
7. Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen	9653
8. Aktuelle Trends	9654
9. Zusammenfassung und Ausblick	9659

1. Einleitung

Nachhaltige Landwirtschaft im 21. Jahrhundert berücksichtigt wirtschaftliche, ökologische und soziale Aspekte zur Herstellung qualitativ hochwertiger und sicherer landwirtschaftlicher Produkte für eine ständig wachsende Weltbevölkerung im Angesicht schwindender Ressourcen, indem die Auswirkungen der Landwirtschaft auf Umwelt und biologische Vielfalt minimiert werden. In diesem Zusammenhang umfasst nachhaltige Landwirtschaft die Anwendung moderner Insektizide, um Kulturpflanzen vor wirbellosen Schädlingen zu schützen, die sich von für die menschliche Ernährung angebauten Pflanzen ernähren.

Seit vielen Jahren ist der nicotinische Acetylcholin-Rezeptor (nAChR) von wachsender Bedeutung als molekulares Ziel für Insektizide (Gesamtmarktanteil im Jahr 2011 für die landwirtschaftliche Nutzung: 30,8 %). Er spielt eine zentrale Rolle bei der Vermittlung der schnellen exzitatorischen synaptischen Übertragung in das zentrale Nervensystem (ZNS) von Insekten. Trotz langjähriger Nutzung des pflanzlichen Insektizids (S)-(–)-Nicotin (Abbildung 1), isoliert als agonistisch aktives Alkaloid aus *Nicotiana*-Arten und verwendet als wässriger Tabakextrakt (Anwendung von 2500 Tonnen weltweit nach 1945), war der nAChR ein unterproportional genutztes biochemisches Ziel für neue Insektizide, wie ein geschätzter Anteil von nur 1,5 % am weltweiten Insektizidmarkt 1987 widerspiegelt.^[1] Wegen seiner hohen Toxizität bei Säugetieren und begrenzten insektiziden Wirksamkeit konnte jahrzehntelang keine herausragende Klasse auf der Basis von (S)-(–)-Nicotin als Leitstruktur für neuartige nAChR-Agonisten etabliert werden. In jüngerer Zeit ist der nAChR im modernen Pflanzenschutz allerdings zu einem wichtigen Ziel geworden, und es wurden drei Klassen von Insektiziden entdeckt und vermarktet.

Eine kleine Gruppe von Proinsektiziden (Cartap-Hydrochlorid, Thiosultap-Natrium, Bensultap, Thiocyclam)^[2] ist strukturell vom neurotoxischen und insektizid wirksamen, natürlich vorkommenden insektenlähmenden Nereistoxin abgeleitet (Abbildung 1), einem aus den Speicheldrüsen des Meeresringelwurms *Lumbriconeris heteropoda* Marenz isolierten neurotoxischen 1,2-Dithiolanderivat. Diese Proinsektizide werden im Insektenkörper metabolisch in Nereistoxin umgewandelt^[3] und wurden vom Insecticide Resistance Action Committee (IRAC; einem Expertengremium von CropLife International: <http://www.irac-online.org>) aufgrund ihrer Wirkungsweise als nAChR-Kanal-Blocker der Gruppe 14 zugeordnet.

Die zweite Gruppe von Insektiziden ist die schnell wachsende Klasse von Neonicotinoidinsektiziden der IRAC-Wirkungsmechanismusgruppe 4A mit selektiver Wirkung auf

[*] Prof. Dr. P. Jeschke
Bayer CropScience AG
BCS AG R&D-SMR-PC-PCC C2
Alfred-Nobel-Straße 50, Gebäude 6510
40789 Monheim am Rhein (Deutschland)
E-Mail: peter.jeschke@bayer.com

Dr. R. Nauen
Bayer CropScience AG
BCS AG-R&D-SMR-PC-PCB-PPS-RM
Alfred-Nobel-Straße 50, Gebäude 6220
40789 Monheim am Rhein (Deutschland)

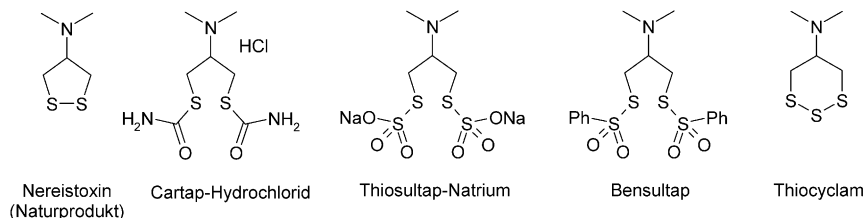
Dr. M. E. Beck
Bayer CropScience AG
BCS AG R&D-SMR-RT-CS
Alfred-Nobel-Straße 50, Gebäude 6500
40789 Monheim am Rhein (Deutschland)

[**] Eine Liste wichtiger Abkürzungen findet sich am Artikelende.

Pflanzliches Insektizid:



nAChR-Kanal-Blocker (Nereistoxinanaloga):



allosterische nAChR-Modulatoren (Spinosyne):

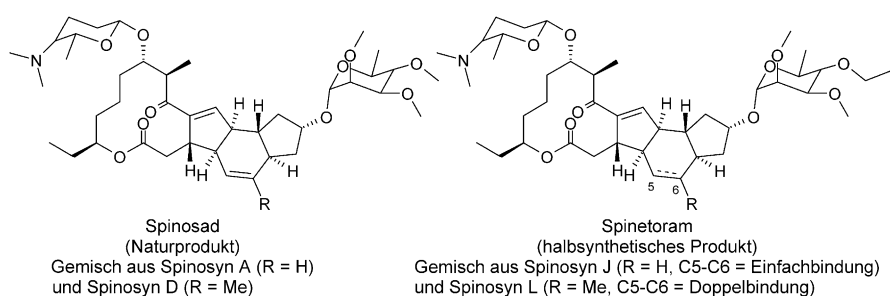


Abbildung 1. Das pflanzliche Insektizid (S)-(-)-Nicotin, kommerziell erhältliche nAChR-Kanal-Blocker (Nereistoxinanaloga) und allosterische nAChR-Modulatoren (Spinosyne).

das Insekten-ZNS als Agonisten an postsynaptischen nAChRs (siehe Abschnitt 1.1, Abbildung 2). Die dritte Klasse sind die Spinosyne, eine Familie von durch Fermentation gewonnenen insektiziden makrocyclischen Lactonen wie dem natürlich vorkommendem biologischen Insektizid Spinosad (einem Gemisch aus Spinosyn A und D), gebildet vom Actinomyceten *Saccharopolyspora spinosa*, und das halbsynthetische Spinetoram (ein Gemisch aus Spinosyn J und L; Abbildung 1).^[4] Aufgrund ihrer Bindungsstelle, die sich von jener der Neonicotinoide unterscheidet, wurden Spinosyne vom IRAC als allosterische nAChR-Modulatoren der Wirkmechanismusgruppe 5 zugeordnet (Umsatz 2011: 300 Mio. \$).

2011 betrug der Anteil der Neonicotinoide am gesamten Weltmarkt für Insektizide (12.75 Mrd. \$) 28.5 %, wie in Tabelle 1 dargestellt. Neonicotinoide sind potente Breitspektrum-insektizide mit Kontakt-, Fraß- und systemischer Wirkung. Da diese nAChR-Agonisten auf einen neuen Wirkort gerichtet sind, gab es keine Kreuzresistenz zu herkömmlichen, lange etablierten Insektizidklassen, und daher hat die Neonicotinoidklasse begonnen, diese älteren und ökologisch weniger gut verträglichen Klassen zu ersetzen, z. B. Natriumkanal(SoCh)-Modulatoren (Pyrethroide), Acetylcholinesterase(AChE)-Inhibitoren (Organophosphate, Carbamate) und mehrere andere bislang in der Landwirtschaft verwendete Klassen von Insektiziden.

Neonicotinoide sind besonders aktiv gegen saugende Schädlinge wie Blattläuse, Wanzen, Weiße Fliegen und Zikaden, aber sie werden auch zur Bekämpfung verschiedener schädlicher Käfer und Motten vermarktet. Dank ihrer besonderen physikochemischen Eigenschaften (siehe Abschnitt 2.3) haben diese nAChR-Agonisten vielfältige An-

Tabelle 1: Umsatz von Insektizid-Klassen nach Wirkmechanismusklassifizierung im Jahr 2011.^[5]

IRAC Untergruppe ^[a]	Wirkmechanismus-klassifizierung ^[b]	Umsatz [in Mio. US\$] (Insektizide gesamt [%]) ^[c]
4A	nAChR-Agonisten	3640 (28.5)
3A	SoCh-Modulatoren	2025 (15.9)
1A, 1B	AChE-Inhibitoren	2330 (18.2)

[a] 1A = Carbamate, 1B = OPs, Organophosphate. [b] SoCh: Natriumkanal; AChE: Acetylcholinesterase. [c] Gesamter Insektizidmarkt, 12.75 Mrd. \$.



Peter Jeschke promovierte in organischer Chemie bei Manfred Augustin an der Universität Halle-Wittenberg und wechselte danach in die agrochemische Forschung bei der Fahlberg-List Company, bevor er an das Institut für Neurobiologie und Hirnforschung, Akademie der Wissenschaften, ging. 1989 kam er zu Bayer in den Bereich der Tiergesundheitsforschung und übernahm acht Jahre später eine Stelle im Bayer Pflanzenschutz-Geschäftsbereich, wo er derzeit Leiter der Gruppe Small Molecule Research Pest Control Chemistry 2 bei Bayer CropScience AG ist. Seit 2011 ist er Honorarprofessor an der Universität Düsseldorf.



Ralf Nauen ist ein Bayer CropScience Research Fellow, der an der School of Biological Sciences bei Martyn Ford an der University of Portsmouth (Großbritannien) promovierte. Als Insektentoxikologe bei Bayer CropScience AG arbeitete er an Wirkungsweisen von Insektiziden und später an globalen Aspekten der Insektizidresistenz und ihrer Ausbreitung, ihrer Mechanismen und ihres Managements. Er ist Dozent an der Universität Göttingen und Hannover und Fellow der Royal Entomological Society (London). Er ist Mitarbeiter der Abteilung Pest Control Biology und Leiter des Resistenzmanagements.

wendungsmöglichkeiten und können mit zahlreichen Anwendungstechniken einschließlich Blatt- und Saatgutbehandlung, Bodenspritzung und Stammapplikation bei verschiedenen Nutzpflanzen verwendet werden.

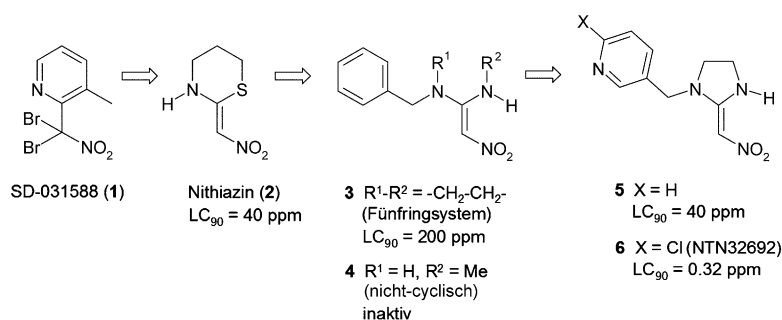
Wegen des konkurrenzfähigen Sicherheitsprofils, der hohen Spezifität am nAChR und der Vielseitigkeit der Anwendungsverfahren ist die Klasse der Neonicotinoide weltweit ein integraler Bestandteil zahlreicher Schädlings- und integrierter Insektenbekämpfungsstrategien. Innovative Konzepte für das Life-Cycle-Management haben zusammen mit der Einführung generischer nAChR-Agonisten Neonicotinoide zu der wichtigsten Klasse auf dem Insektizidmarkt gemacht. Dank ihrer günstigen Sicherheitseigenschaften im Hinblick auf Säuger sind einige von ihnen auch zur Bekämpfung urbaner Schädlinge wie Termiten sowie einiger Schädlinge im Veterinärbereich wichtig.^[6]

Bis zum heutigen Tage ist es nicht möglich, die nativen nAChRs von Insekten hinsichtlich ihrer molekularen Architektur, Funktionsweise und Diversität perfekt modellhaft zu erfassen. Insbesondere haben die Neonicotinoide als hoch effiziente und spezifische molekulare Sonden eine Renaissance in der strukturellen Untersuchung von Insekten-nAChRs eingeleitet sowie das Verständnis der Ligandenselektivität bei Insekten und Säugetieren vertieft. Innerhalb der letzten zehn Jahre hat eine Vielzahl von hoch aufgelösten Kristallstrukturen löslicher homopentamerer acetylcholinbindender Proteine (AChBPs) die theoretischen Grundlagen für das Erstellen von Homologiemodellen der entsprechenden Rezeptorligandenbindungsdomänen gelegt. Damit wurde die Tür für das virtuelle Screening chemischer Bibliotheken und für das rationale Design neuartiger Agonisten geöffnet. Dies weist auf die Bedeutung des nAChR als kontinuierliche Quelle für die Identifizierung moderner Insektizide mit hoher Wirksamkeit und maximaler Sicherheit hin.

1.1. Geschichtlicher Überblick

Die Entdeckung der herausragenden Klasse der Neonicotinoidinsektizide und ihre Einführung in den Weltmarkt sind das Resultat allgemein anwendbarer Schlüsselfaktoren

für langfristiges, erfolgreiches Design von Wirkstoffen in Kombination mit fokussierter und effizienter Optimierungsstrategie. In den frühen 1970er Jahren hat das Biologische Forschungszentrum der ehemaligen Shell Development Company in Modesto (USA) fünf- und sechsgliedrige, gesättigte Nitromethylenheterocyclen mit Wirkung auf Insekten-nAChRs gefunden. Beginnend mit einem Screening zur Entdeckung neuer Leitstrukturen aus universitären Quellen^[7] fand Shell 2-(Dibromnitromethyl)-3-methylpyridin (**1**, SD-031588) mit einer unerwarteten, geringen insektiziden Wirkung gegen Stubenfliegen (*Musca domestica* L.) und Erbsenläuse (*Acyrtosiphum pisum* HARRIS). Rationale und direkte Optimierung führte zum Nitroenamin Nithiazin (**2**), der ersten Neonicotinoid-Leitstruktur (Schema 1).^[8]



Schema 1. Entwicklung der 2. Leitstruktur (NTN32692, **6**); insektizide Wirkung (LC₉₀) gegen die Grüne Reizikade (*N. cincticeps*, drittes Larvenstadium); siehe Lit. [9].

Elektrophysiologische Studien und Radioligandenbindungsstudien ergaben, dass **2** und strukturverwandte Nitromethylene in der gleichen Weise wie (*S*)-(-)-Nicotin auf Insekten-nAChRs wirken.^[10] Nithiazin (**2**) zeigte höhere Aktivität als Parathion (OP) gegen adulte Stubenfliegen und wirkte 1662-mal so stark gegen Larven des Baumwollkapselbohrers (*Helicoverpa zea* BODDIE), kombiniert mit gutem systemischem Verhalten in Pflanzen und geringer Toxizität für Säuger. Doch wegen seiner Instabilität unter hydrolytischen und photolytischen Bedingungen (aufgrund des instabilen [=CH-NO₂]-Chromophors, λ_{max} = 343 nm; $t_{1/2}$ = 0.5 h) in Feldversuchen und seiner begrenzten Wirksamkeit wurde **2** nie für breite landwirtschaftliche Nutzung kommerzialisiert. 1979 wurde ein Syntheseprojekt bei Nihon Tokushu Noyaku Seizo KK (später Bayer CropScience KK, Japan) auf der Grundlage von Nithiazin (**2**) gestartet. Zuerst schien es aber keine offensichtlichen Strukturähnlichkeiten zwischen dem (*S*)-(-)-Nicotin und **2** zu geben. Eine neue Insektizidscreeningmethode mit Reiskeimlingen wurde für die fortdauernde Beobachtung der systemischen und gleichzeitig der Kontaktwirkung aller hergestellten Verbindungen gegen die Reizikade (anstelle der früher verwendeten *H. zea*), einen der wichtigsten saugenden Reisschädlinge in Japan, über einen Testzeitraum von zwei Wochen entwickelt.^[11] Der Ersatz des sechsgliedrigen Nithiazinrings (**2**) durch verschiedene N-substituierte Ringsysteme verdeutlicht, dass insektizide Wirkung gegen die Grüne Reizikade (*Nephotettix cincticeps*) von der Ringgröße abhängt (Siebenring < Sechsring <



Michael E. Beck studierte Chemie in Köln. Während seiner Promotion in theoretischer Chemie bei Georg Hohlneicher an der Universität zu Köln verbrachte er mehrere Forschungsaufenthalte bei Björn Roos an der Universität Lund (Schweden). Nach einer Postdoc-Zeit bei Walter Thiel an der Universität Zürich kam er zu Bayer, wo er seine Interessen von der Theorie angeregter Zustände auf praktische Anwendungen der Computerchemie ausgedehnt hat. Heute ist er Leiter der Gruppe Computational Science bei der Bayer CropScience AG. Michael Beck liest an der TU Dortmund über Rechenmethoden zur Wirkstoff-Findung.

Fünfring). Zum Beispiel zeigte die Einführung verschiedener Substituenten am fünfgliedrigen 2-Nitromethylenimidazolidinsystem, dass nur 1-Benzyl-2-(nitromethylen)imidazolidin (**3**) die Aktivität steigert (Schema 1). Wegen des vollständigen Aktivitätsverlusts im Falle nicht-cyclischer Strukturen wie **4** (Schema 1) wurden einfache (fünfgliedrige) Ringsysteme zu dieser Zeit bevorzugt. Austausch des Benzylrests in **3**, z. B. durch 4-Chlorbenzyl oder Pyridin-3-ylmethyl unter Bildung von **5**, verbessert die insektizide Aktivität auf 5-fach bzw. 25-fach, was klar belegt, dass ähnlich **2** die aktive Struktur das ganze Molekül und nicht nur das 2-Nitromethylenimidazolidinsystem ist (falls nach metabolischer Spaltung von *N*-Benzyl gebildet). Weitere schrittweise Optimierung führte zur zweiten Leitstruktur NTN32692 (**6**) mit einem einzigartigen 6-Chlorpyridin-3-ylmethylrest, die eine über 100-mal höhere Aktivität als **2** gegen Stämme der Grünen Reizikade mit Resistenz gegen OPs, Carbamaten und Pyrethroiden zeigte. Durch Einführung eines einzigen Chloratoms (X = Cl) in 6-Position des Pyridin-3-ylmethylrests von **5** haben sich die molekularen Eigenschaften und insektizide Wirkung drastisch verändert – diese Entdeckung war ein epochales Ereignis.^[9]

Allerdings absorbiert der [=CH-NO₂]-Chromophor, wie der von **2**, stark Sonnenlicht und zerfällt rasch unter Feldbedingungen ($\lambda_{\text{max}} = 323 \text{ nm}$; $t_{1/2} = 1 \text{ h}$). Nach Herstellung von etwa 2000 Verbindungen und intensiver Forschung an stabileren funktionalen Gruppen resultierte Imidacloprid (**7**) mit einem [=N-NO₂]-Chromophor ($\lambda_{\text{max}} = 269 \text{ nm}$; $t_{1/2} = 3 \text{ h}$) aus diesem Projekt (Abbildung 2).^[12]

Gegenüber der von **2** konnte die insektizide Wirkung von Imidacloprid (**7**) gegen die Grüne Reizikade auf das 125-Fache gesteigert werden. Weiterhin ist **7** etwa 10000-mal so

aktiv wie (*S*)-(-)-Nicotin. Die Synthese dieses neuen systemischen Insektizids (**7**) wurde durch Kombination des einzigartigen 6-Chlorpyridin-3-ylmethylrests mit dem 2-(*N*-Nitroimino)imidazolidinsystem erreicht, was in dieser Substanzklasse neu war. Anschließend führte eine parallele Änderung des Chromophors zu [=N-CN] ($\lambda_{\text{max}} = 242 \text{ nm}$) und damit zur Entdeckung des Neonicotinoidinsektizids Thiacloprid (**8**; Abbildung 2).

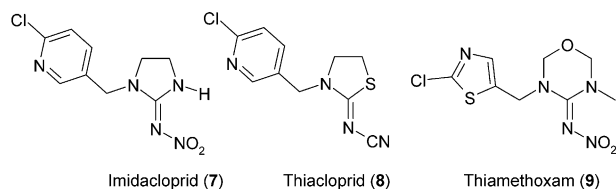
Mit der Markteinführung des Insekten-nAChR-Agonisten Imidacloprid (**7**) durch Bayer CropScience AG 1991 begann die Erfolgsgeschichte der Neonicotinoide – ein Meilenstein in der Insektizidforschung ebenso wie für den modernen Pflanzenschutz.^[13] Imidacloprid (**7**) ist zum erfolgreichsten, hochwirksamen und meistverkauften Insektizid weltweit geworden, wichtig zur Bekämpfung von wirbellosen Schädlingen zahlreicher Nutzpflanzen ebenso wie für den tierärztlichen Gebrauch. Seine enorm hohe insektizide Potenz löste umfangreiche Forschungsprogramme bei anderen forschungsorientierten Agrochemieunternehmen aus. Sie zogen es vor, Gerüste auf Basis nicht-cyclischer Strukturen und Sechsringsysteme zu untersuchen, und entwickelten weitere Neonicotinoidinsektizide (Abbildung 2).

1.2. Umfang und Schwerpunkt des Aufsatzes

Dieser Aufsatz konzentriert sich auf ausgewählte präparative Modifikationen von nAChR-Agonisten anstatt auf nAChR-Kanal-Blocker und allosterische nAChR-Modulatoren. Die Abschnitte dieses Aufsatzes decken die Strukturmerkmale der Neonicotinoide ab und umfassen physikochemische Eigenschaften, hohe biochemische Selektivität am nAChR, biologisches Profil und Anwendungsaspekte, phytotonische Wirkungen, quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SARs), aber auch neue Kandidaten in der Agrochemieentwicklung sowie die neuesten Trends bei der Suche nach neuen nAChR-Agonisten-Leitstrukturen. Viele Aspekte der Chemie (einschließlich industrieller Prozesse), Biochemie und Biologie dieser erfolgreichen Stoffklasse wurden gründlich untersucht und in zahlreichen Artikeln und Buchkapiteln dargestellt.^[1,13,14] Deshalb haben wir den Rahmen dieses Aufsatzes vor allem auf die seit 1998 veröffentlichten Arbeiten beschränkt, auf Erfolge aus chemo- und biorationalen Ansätzen wie die durch das aktuelle Wissen über AChBPs und Insekten-nAChR-Struktur beeinflussten, auf zielbasiertes Screening von Substanzen und Entwicklung neuer nAChR-Agonisten in diesem Zeitraum. Die Intention dieses Aufsatzes ist es, die Bedeutung von nAChRs als molekulare Ziele für Insektizide unter besonderer Berücksichtigung von nAChR-Agonisten sowie molekularen Hilfsmitteln in der Insektenneurochemie darzustellen. Allerdings untermauern der zunehmende Grad und die Zahl der Resistenzfälle bei bedeutsamen Schädlingen gegenüber den Neonicotinoidinsektiziden die Notwendigkeit weiterer Forschungsarbeiten zur Entdeckung neuartiger nAChR-Agonisten mit resistenzbrechenden Eigenschaften, vielversprechender Wirksamkeit und hoher Selektivität am nAChR.

nAChR-Agonisten (Neonicotinoide):

Ringsysteme:



nicht-cyclische Strukturen:

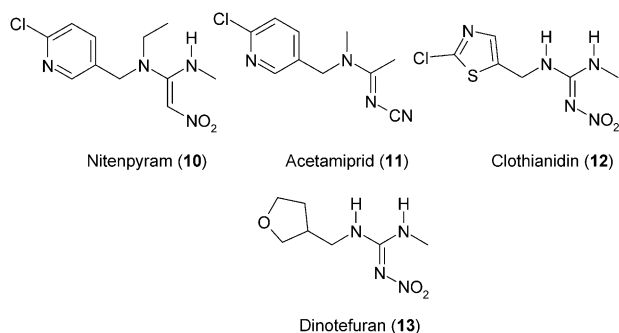


Abbildung 2. Auf dem Markt befindliche nAChR-Agonisten (Neonicotinoide) mit Ringsystemen und nicht-cyclischen Strukturen.

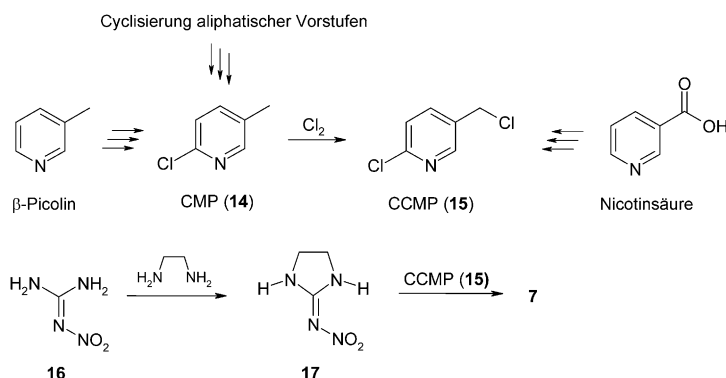
2. Kommerzielle Agonisten

Bislang sind sieben Neonicotinoide kommerziell etabliert: zwei Fünfringsysteme – Imidacloprid (**7**) und Thiacloprid (**8**; Bayer CropScience AG) –, ein Sechsringsystem – Thiamethoxam (**9**; Syngenta AG) – sowie vier nicht-cyclische Strukturen – Nitenpyram (**10**; Sumitomo Chemical Takeda Agro Company), Acetamiprid (**11**; Nippon Soda), Clothianidin (**12**; Sumitomo Chemical Takeda Agro Company/Bayer CropScience AG) und Dinotefuran (**13**; Mitsui Chemicals; Abbildung 2).^[14]

2.1. Industrielle Verfahren

Mehrere Übersichtsartikel über die industrielle Herstellung der Ringsysteme **7–9** und nicht-cyclischen Strukturen **10–13** (Abbildung 2)^[14a,b] wurden veröffentlicht, beispielhaft zwei wichtige Agonisten des nAChR, die Fünfringsubstanz Imidacloprid (**7**) und die nicht-cyclische Struktur Clothianidin (**12**).

Aus den technischen Verfahren zur Herstellung von **7** ist eine Reihe von Methoden zur Synthese von 2-Chlor-5-methylpyridin (CMP, **14**) oder seinem chlorierten Derivat 2-Chlor-5-(chloromethyl)pyridin (CCMP, **15**) bekannt. Wie in Schema 2 dargestellt, führen verschiedene Wege ausgehend

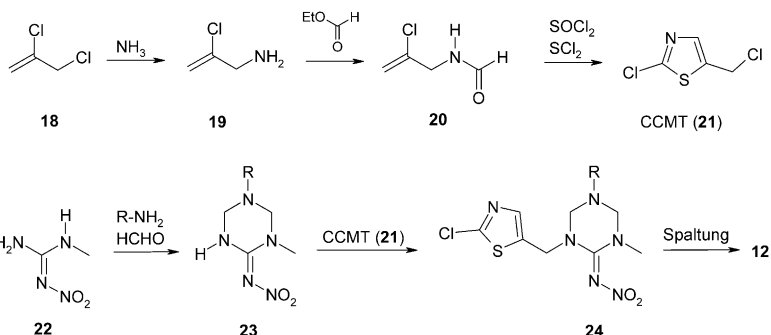


Schema 2. Synthese des fünfgliedrigen Imidacloprids (**7**).

von den im Handel erhältlichen Ausgangsmaterialien β -Picolin, Nicotinsäure oder aliphatischen Vorstufen wie Propionaldehyd und Acrylsäure zu **14** oder **15**. Des Weiteren ist **7** durch N-Alkylierung von 2-*N*-Nitroiminoimidazolidin (**17**), hergestellt durch Cyclokondensation aus *N*-Nitroguanidin (**16**) und 1,2-Ethylendiamin, mit CCMP (**15**) erhältlich (Schema 2). Clothianidin (**12**) kann auf konvergentem Weg aus N-alkyliertem 2-(*N*-Nitroimino)hexahydro-1,3,5-triazin (**23**) und 2-Chlor-5-(chloromethyl)-1,3-thiazol (CCMT, **21**) synthetisiert werden.

Ausgehend von *N*-Methyl-*N'*-nitroguanidin (**22**; leicht durch Umsetzung von **16** mit Methylamin erhältlich) und Formaldehyd in Gegenwart eines primären Amins (Mannich-Reaktion) entsteht die Sechsring-Zwischenstufe **23**. Ausge-

hend von 1,2-Dichlor-2-propen (**18**) kann 2-Chlor-2-propen-1-amin (**19**) erhalten werden, das über N-Formylierung zu *N*-Formyl-2-chlor-2-propen-1-amin (**20**) führt. Nach Halogenierung mit nachfolgender Cyclisierung entsteht CCMT (**21**). Die endgültige Herstellung von **12** erfolgt durch N-Alkylierung von **23** mit **21** und anschließende Ringöffnung der Bis-Aminalstruktur **24** (Schema 3).

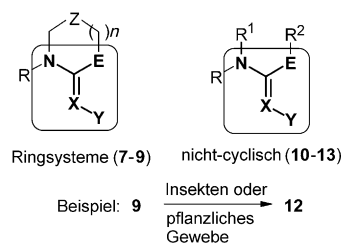


Schema 3. Synthese des nicht-cyclischen Clothianidins (**12**).

2.2. Strukturelle Vielfalt

Der Begriff „Neonicotinoid“ wurde ursprünglich von Yamamoto und Tomizawa für Imidacloprid (**7**) und verwandte Insektizide vorgeschlagen,^[15] um diese neuartigen nAChR-Agonisten gegen ältere Nicotinoidinsektizide wie (*S*)-(-)-Nicotin abzugrenzen. In Anbetracht des in Schema 4 skizzierten Pharmakophormerkmals [-N-C(E)=X-Y] können kommerziell verfügbare Neonicotinoide als *N*-Nitroguanidine (**7**, **9**, **12**, **13**), Nitromethylene (**10**) und *N*-Cyanamidine (**8**, **11**) klassifiziert werden (siehe auch Abbildung 2).

Das gesamte chemische Merkmal für beide Ringsysteme und nicht-cyclische Strukturen besteht aus verschiedenen Segmenten: für die fünf- und sechsgliedrigen Ringsysteme (**7–9**) die Überbrückungsfragmente [-CH₂-Z-(CH₂)_n-] (*n* = 0, Z = CH₂; *n* = 1, Z = O) und für nicht-cyclische Strukturen (**10–13**) die einzelnen Substituenten R¹ (H, Ethyl) und R² (Methyl); die Hetarylmethyl- (6-Chlorpyridin-3-ylmethyl, 2-Chlor-1,3-thiazol-5-ylmethyl) oder Heterocyclymethylgruppe ((*RS*)-(\pm)-Tetrahydrofuran-3-ylgruppe) und die funktionale Gruppe [=X-Y] (z.B.



Schema 4. Ringsysteme (**7–9**) im Vergleich zu nicht-cyclischen Strukturen (**10–13**) und Beispiel für die Umwandlung von **9** in **12** durch Ringöffnung.

[=N-NO₂], [=CH-NO₂] und [=N-CN]) als Teil der verschiedenen Pharmakophorarten [-N-C(E)=X-Y]. Durch metabolische Ringöffnung in vivo (z. B. durch oxidative Bioaktivierung) des sechsgliedrigen Ringsystems Thiamethoxam (**9**) kann in Insekten und pflanzlichen Geweben das nicht-cyclische **12** (siehe auch Beispiel in Schema 4) gebildet werden.^[16a-d] Demgegenüber wurden **9** und **12** als nicht-kompetitive Inhibitoren des Insekten-nAChR beschrieben.^[16e]

2.2.1. Bioisostere Segmente

Die nicht-cyclischen Strukturen (**10–13**) zeigen eine vergleichbare Breitspektrum-Insektizidwirkung wie entsprechende Ringsysteme (**7–9**) und bilden eine so genannte „quasi-cyclische“ Konformation beim agonistischen Binden an Insekten-nAChRs.^[17] Abbildung 3 überlagert von der

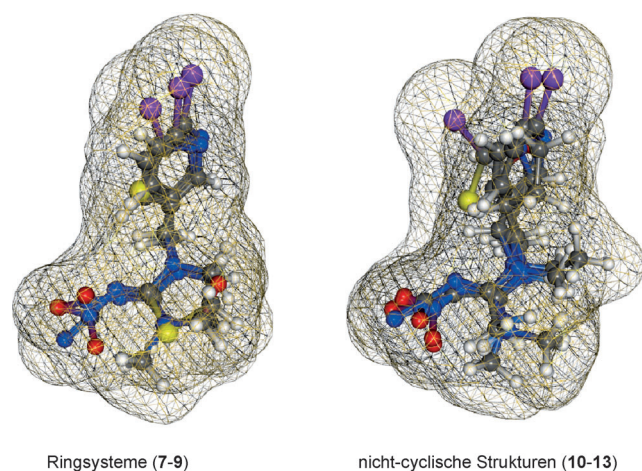


Abbildung 3. Überlagerung der Van-der-Waals-Volumina (als Connolly-Oberflächen dargestellt) in ihren energetisch günstigsten Konformationen von Ringsystemen (**7–9**) und nicht-cyclischen Strukturen (**10–13**).

Waals-Volumina der Ringsysteme (**7–9**) und nicht-cyclische Strukturen (**10–13**), durch Connolly-Oberflächen dargestellt.

Der Ersatz der stickstoffhaltigen Hetaryl-methylgruppen durch den bioisosteren (*RS*)-(±)-Tetrahydrofur-3-ylmethylrest führte zu einem deutlich schwächeren Wasserstoffbrückenakzeptor am nAChR-aktiven Zentrum.^[18] Auf der anderen Seite entsprechen sowohl die Elektrostatik als auch räumliche Beziehung des Pharmakophormerkmals [-N-C(E)=X-Y] sehr gut der nAChR-Agonistenbindung. Die Pharmakophorgruppe beeinflusst nicht nur die Bioaktivität, sondern ist darüber hinaus auch für die photolytische Stabilität sowie für einige spezifische Eigenschaften wie Abbau im Boden, Stoffwechsel in Pflanzen und fehlende Toxizität gegen andere Tiere und Nützlinge verantwortlich.^[1]

2.3. Physikochemische Eigenschaften

Die physikochemischen Eigenschaften der nAChR-Agonisten sind für ihre erfolgreiche Entwicklung als moderne Insektizide von größter Bedeutung. In diesem Zusammen-

hang ist Photostabilität ein wichtiger Faktor in der praktischen Anwendung.^[19] Für technische Anwendungsverfahren in praxi, wie Bodendurchtränkung, Saatgutbehandlung und Blattanwendung, sind ihre Aufnahme, translaminare und akropetale Translokation in Pflanzen von entscheidender Bedeutung für ihre insektizide Wirkung gegen eine Vielzahl von saugenden Schädlingen (siehe Abschnitt 2.3.1). Daher müssen nicht nur die bioisosteren Segmente wie die 6-Chlorpyridin-3-ylmethyl- und 2-Chlor-1,3-thiazol-5-ylmethylgruppe (siehe Abschnitt 2.2.1), sondern auch die gesamte molekulare Form für Wasserlöslichkeit und Lipophilie, wie durch den 1-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten beschrieben (log *P*_{ow}; Tabelle 2), in Betracht gezogen werden,

Tabelle 2: Übersicht über nAChR-Agonisten nach Pharmakophortyp, Löslichkeit in Wasser und log *P*_{ow}-Werten.

nAChR-Agonisten [Pharmakophortyp] ^[a]	Löslichkeit in Wasser [g L ⁻¹] bei 20 °C ^[b]	log <i>P</i> _{ow} (bei 25 °C) ^[c]
10 [-N-C(N)=CH-NO ₂]	840	-0.64
13 [-N-C(N)=N-NO ₂]	54.3 ± 1.3	-0.644
9 [-N-C(N)=N-NO ₂]	4.10	-0.13
7 [-N-C(N)=N-NO ₂]	0.61	0.57
12 [-N-C(N)=N-NO ₂]	0.327	0.7
11 [-N-C(Me)=N-CN]	4.20	0.8
8 [-N-C(S)=N-CN]	0.185	1.26
41 [N-Cyansulfoximin]	0.67	0.802
50 [Butenolid]	3.24	1.49

[a] Pharmakophortyp [N-Cyansulfoximin] für Sulfoxaflor (**41**; siehe Abschnitt 8.3.1) und [Butenolid] für Flupyradifurone (**50**; siehe Abschnitt 8.3.3). [b] Löslichkeit in Wasser von **10** bei pH 7 sowie **9** und **11** bei 25 °C. [c] log *P*_{ow} für **7** bei 22 °C, **8** bei 20 °C.

wobei *P*_{ow} der Verteilungskoeffizient im 1-Octanol-Wasser-System ist, der häufig als Ersatzmaß der Lipophilie verwendet wird und Membranpermeation, Transport und Translokation von Verbindungen in lebenden Systemen bestimmt.^[20]

Lipophilie bezeichnet die Löslichkeit von Wirkstoffen in Fetten, Ölen und Lipiden. Lipophile Insektizide (log *P*_{ow} > 4) wirken im Allgemeinen nicht systemisch, während als mäßig lipophil geltende Verbindungen einen log *P*_{ow}-Wert zwischen 0.5 und 3.5 haben. Einmal aufgenommen, wandern diese Insektizide im Pflanzenxylem aufwärts und werden in die wachsenden Sprossen übertragen. Die Aufnahme durch die Wurzeln ist größer, wenn die Insektizide lipophiler sind.^[21]

Im Allgemeinen haben kommerziell verfügbare Neonicotinoide niedrige log *P*_{ow}-Werte (Tabelle 2), die gute pflanzensystemische Bekämpfung stechend-saugender Insekten ermöglichen. Die polaren, nicht-flüchtigen Verbindungen haben eine größere Wasserlöslichkeit (z. B. im Falle von **10**: 840 g L⁻¹) und geringere log *P*_{ow}-Werte (z. B. **13**: -0.644 bei +25 °C) als unpolare Insektizide. Diese Beobachtungen lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

- Im Allgemeinen sind nicht-cyclische Strukturen weniger lipophil als die entsprechenden fünf- und sechsgliedrigen Ringsysteme.
- Die Wasserlöslichkeit wird durch die funktionelle Gruppe [=X-Y] innerhalb der Pharmakophorgruppe [-N-C(E)=X-Y] beeinflusst und steigt in der Reihenfolge [=N-NO₂] < [=N-CN] < [=CH-NO₂].

- Im Hinblick auf E steigt die Lipophilie in der Reihenfolge $\text{NH} < \text{O} < \text{C} < \text{S}$.^[22]

Nach Briggs et al.^[23] sollten lipophilere Neonicotinoidinsektizide wegen ihrer überlegenen Wurzel Aufnahme und anschließenden Translokation für die Saatgutbehandlung günstig sein. Wegen der höheren Lipophilie zeigen **8** und **12** die beste Wurzel Aufnahme, während **10** und **12** im Xylem mobiler sind als die anderen Substanzen. Das Ausmaß der Wurzel Aufnahme wird quantitativ durch den Transpirationsstromkonzentrationsfaktor (TSKF), definiert als Verhältnis der Konzentration einer Verbindung im Transpirationsstrom (Xylem) zu der Konzentration in der externen Lösung, beschrieben.

Durch Anpassen einer Gauß-Kurve an experimentell für zahlreiche Verbindungen beobachtete TSKF (als Funktion von $\log P_{\text{ow}}$) in Gerstensprosslingen konnten Briggs et al.^[23] zeigen, dass etwa $\text{TSKF}(\log P_{\text{ow}}) = 0.784 \exp[-(\log P_{\text{ow}} - 1.78)^2/2.44]$ ist. Abbildung 4 ordnet die Verbindungen aus Tabelle 2 in diese Beziehung ein und verdeutlicht, dass relativ kleine Lipophilieunterschiede einen recht ausgeprägten Einfluss auf die Wurzel Aufnahme haben können.

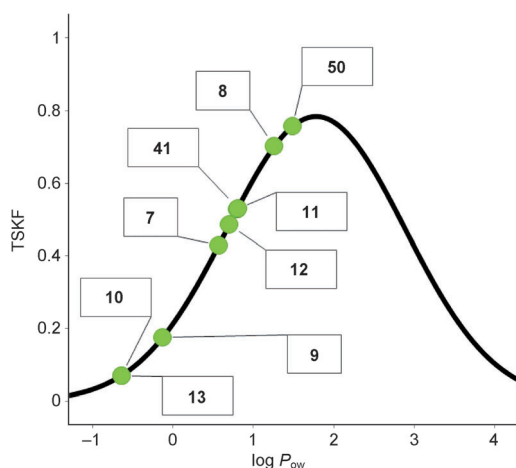


Abbildung 4. Transpirationsstromkonzentrationsfaktoren (TSKF) von nAChR-Agonisten aus Tabelle 2 als Funktion der $\log P_{\text{ow}}$ -Werte.

3. Bedeutung selektiver Insektizide

In den letzten drei Jahrzehnten wurde eine Reihe von neuen chemischen Insektizidklassen eingeführt, nicht unbedingt mit neuen Wirkmechanismen, aber selektiver im Hinblick auf die toxikodynamischen Eigenschaften bezüglich Insektenschädlingen. nAChR-Agonisten gehören zu diesen neu eingeführten chemischen Klassen und zeigen ein günstiges Umwelt- und Sicherheitsprofil. Neonicotinoidinsektizide z. B. zielen auf den cholinergen Weg, aber ihre Selektivität ist viel höher als die anderer Insektizide, die entweder auf das

gleiche aktive Zentrum gerichtet sind oder mindestens auf den gleichen Weg, indem sie Enzyme wie AChE hemmen (Tabelle 3).

Die Insektizidselektivität ist heute besonders wichtig wegen zunehmender Auflagen für die Sicherheit von Mensch

Tabelle 3: Selektive Toxizität von nAChR-Agonisten und AChE-Inhibitoren als Vergleich der LD_{50} -Werte nach oraler Verabreichung an Ratten und orale Anwendung gegen die Grüne Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER).

Insektizid	Wirkungs- weise	orale Toxizität Ratte- LD_{50} [mg kg^{-1}]	orale Toxizität Blattlaus- LD_{50} [mg kg^{-1}]	Selektivität (Ratte/Blattlaus)
(S)-(-)-Nicotin	nAChR	50	> 5	< 10
Imidacloprid (7)	nAChR	450	0.36	1300
Clothianidin (12)	nAChR	> 5000	0.14	36 000
Pirimicarb	AChE	150	0.50	300
Oxydemetonmethyl	AChE	70	0.98	71

und Umwelt bei der Zulassung, wie hochentwickelte Sicherheitseinschränkungen für die Sicherheit der Anwender und Verbraucher.

Die Selektivität von nAChR-Agonisten wie Imidacloprid (**7**) oder Clothianidin (**12**) auf der Grundlage ihrer akuten Toxizität ist gegenüber derjenigen aus Pflanzen gewonnener (S)-(-)-Nicotinpräparate sehr hoch, wie Tabelle 3 zeigt. In den USA z. B. wurden die letzten Zulassungen von (S)-(-)-Nicotin zu Nahrungsmittelzwecken erst 1994 entzogen, drei Jahre nach der Einführung von **7** als erstem Neonicotinoidinsektizid. Neonicotinoide sind auch viel selektiver als AChE-Inhibitoren, die vor der Einführung der SoCh-Modulatoren und nAChR-Agonisten die wichtigsten chemischen Kandidaten für die Bekämpfung von saugenden Schädlingen waren (siehe auch Tabelle 1, Abschnitt 1). Allerdings ist die Selektivität eines Insektizids auch sehr wichtig in Programmen zur integrierten Schadinsektenkontrolle (IPM), in denen chemische Insektizide mit Nützlingen als biologische Bekämpfungsmaßnahme kombiniert werden. Daher ist die IPM-Tauglichkeit einer Substanz heute von größter Bedeutung, und nAChR-Agonisten erfüllen besonders bei systemischer Anwendung die Anforderungen an moderne, IPM-freundliche Insektizide.^[24,25] Die Ungefährlichkeit für Nützlinge und Bestäuber ist vor allem durch räumliche und zeitliche Selektivität optimiert worden, so dass z. B. Blattanwendungen gegen Anfangspopulationen von Schädlingen möglich werden, wenn Nutzarthropoden noch fehlen.^[26]

3.1. Selektivität am aktiven Zentrum

Im Unterschied zum für Säugetiere relativ giftigen (S)-(-)-Nicotin wirken Neonicotinoidinsektizide als reversible Agonisten des postsynaptischen nAChR selektiv auf das Insekten-ZNS. Insektizide wie **7** oder **12** zeigen infolge deutlicher Unterschiede in der Architektur der nAChRs von Insekten und Säugetieren, besonders im Hinblick auf vermutlich an der Ligandenbindung beteiligte Aminosäurereste, wenig oder kaum Affinität zu Säuger-nAChRs (z. B. $\alpha 4\beta 2$ -nAChRs; siehe Abschnitt 4.3).^[18a,27] Die Bindungsaffinität

von Imidacloprid (7) gegenüber neuronalen Säuger- $\alpha 4\beta 2$ -nAChRs ist mindestens 1000-mal geringer als die gegenüber Insekten-nAChR-Präparaten aus verschiedenen Spezies. Dies ist „Folge der Wechselwirkung von Imidacloprid mit einer einzigartigen Subsite, die in Insektenrezeptoren aus kationischen Aminosäureresten besteht und in Säuger-nAChRs fehlt“, wie von Tomizawa und Casida skizziert.^[28] Die jüngste Entdeckung des Verlustes der Neonicotinoidbindung durch eine nAChR-Mutation in der $\beta 1$ -Untereinheit von *M. persicae*, die zu einer Substitution von Arginin durch Threonin in Schleife D führt, zeigt schön die Bedeutung einer positiv geladenen Aminosäure für die Ligandenbindung (siehe auch Abbildung 7, Abschnitt 4.3). Diese so genannte R81T-Mutation bedingt einen Verlust direkter elektrostatischer Wechselwirkungen des elektronegativen Pharmakophors mit dem basischen Argininrest an dieser Schlüsselposition innerhalb der Schleife D, was zu hoher Resistenz eines solchen Genotyps gegenüber Neonicotinoiden führt.^[29]

Alle kommerziellen nAChR-Agonisten binden selektiv an Insekten-nAChRs und rufen die gleiche Wirkung wie der natürliche Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) hervor, d. h. agonistische Aktivierung der Rezeptoren durch vorübergehenden Einwärtsstrom, der zur Erzeugung von Aktionspotentialen führt. Ähnlich wie die von ACh ist die Bindung von Neonicotinoiden an nAChRs reversibel, wie ihre schnelle Desensibilisierung/Erholung während kurzzeitiger Exposition in elektrophysiologischen Ganzzell-Voltage-Clamp-Tests an isolierten Neuronen sowohl von Säugetieren als auch von Insekten zeigt.^[18a] Radioligandenbindungsstudien mit [³H]-7 an Insektenkopfmembranpräparationen ergaben selektive hohe Affinität, spezifische und reversible Bindung mit schneller Kinetik.^[30] Berücksichtigt man, dass Säuger-nAChRs keine bis geringe Affinität zu Imidacloprid (7) bei Konzentrationen im mikromolaren Bereich am aktiven Zentrum zeigen, ist hohe Selektivität für insektizide Wirkung für Neonicotinoidinsektizide gegeben. Das umfangreiche Wissen, das über die funktionale Architektur und molekulare Merkmale der Insekten- und Säuger-nAChRs und ihre Ligandenbindungsstellen gewonnen wurde, half die Selektivität dieser Klasse von sicheren und wirksamen Insektiziden zu erklären.

4. Nicotinsche Acetylcholin-Rezeptoren

Die kationenselektiven nAChRs gehören zur „Cysteinschleifen“-Superfamilie ligandengesteuerter Ionenkanäle (LGIC), die für die schnelle exzitatorische Neurotransmission verantwortlich sind. Sie sind gut charakterisierte, komplexe, große (Molekulargewicht ca. 290 kDa), pentamere, allosterische Transmembranproteine und sind beteiligt am raschen Gating von Ionen, das durch ACh an der neuromuskulären Synapse von Wirbeltieren sowie in allen tierischen Zentral- und Peripherennervensystem ausgelöst wird.^[31]

Die nAChRs sind Homo- oder Heteropentamere strukturell verwandter Untereinheiten; sie umfassen eine extrazelluläre N-terminale Domäne mit sechs verschiedenen, an der Ligandenbindung beteiligten Bereichen (Schleifen A–F), eine Cys-Cys-Schleife, vier C-terminale, den kationenper-

meablen Kanal bildende Transmembrandomänen (TM1–TM4) sowie eine intrazelluläre Region von TM3 bis TM4.^[32] Jede Untereinheit umfasst etwa 500 Aminosäuren, wird von einem separaten Gen kodiert und verfügt über die vier Transmembrandomänen (TM1–TM4). Die Untereinheiten sind um die zentrale Pore herum orientiert, sodass der resultierende Transmembranionenkanal durch eine pentamere Anordnung der von jeder der fünf Untereinheiten beigetragenen TM2-Helixsegmente gebildet wird. Bei Wirbeltieren wurden siebzehn nAChR-Untereinheiten identifiziert ($\alpha 1$ – $\alpha 10$, $\beta 1$ – $\beta 4$, γ , δ und ϵ), die sich zusammenlagern können, um eine vielfältige Familie von nAChR-Subtypen hervorzubringen. In Insekten wurden mehrere Gene identifiziert, die mehrfache nAChR-Untereinheiten kodieren, was die artübergreifende Existenz einer Reihe von Insektenrezeptor-subtypen vermuten lässt.^[33] Als agonistenkontrollierter Ionenkanalkomplex für exzitatorische Neurotransmission ist der nAChR im Insekten-ZNS weit verbreitet und bildet ein wichtiges Ziel für Insektizidwirkung. Anders als ihre Wirbeltier-Gegenstücke sind die nAChRs einheimischer Insekten im Hinblick auf ihre funktionale Architektur, Vielfalt und Tertiärstruktur noch kaum verstanden.^[34]

Insekten-nAChR-Genfamilien sind kleiner als die von Vertebraten und sogar anderen Invertebraten wie *C. elegans*.^[36] Bislang wurden verschiedene komplette Insekten-nAChR-Genfamilien anhand vollständig sequenzierter Insektengenome beschrieben, z. B. bei *Drosophila melanogaster*^[37a] mit zehn nAChR-Untereinheiten (sieben $D\alpha 1$ –7 und drei $D\beta 1$ –3), ähnlich dem Malariavektor *Anopheles gambiae* (neun $Ag\alpha 1$ – $\alpha 9$ und ein $Ag\beta 1$). Elf Untereinheiten wurden bei der Honigbiene (*Apis mellifera*) beschrieben; sie umfassen neun $Am\alpha 1$ – $\alpha 9$ und zwei $Am\beta 1$ ($\beta 1$ – $\beta 2$).^[37b] Wie bei vielen anderen integralen Membranproteinen gelang es bisher noch nicht, Kristalle irgendeines nAChR in ausreichender Qualität für die hochauflösende Röntgenstrukturanalyse zu erhalten. Heute sind sowohl die Kristallstruktur der AChBPs als auch das verfeinerte Modell des membran-gebundenen *Torpedo*-AChR^[35a] zur Beschreibung der Wechselwirkungen zwischen nAChRs und entsprechenden nAChR-Agonisten verfügbar (Abbildung 5).

4.1. Acetylcholinbindende Proteine

Ein wichtiger Durchbruch beim Verständnis der Cys-Schleifen-Rezeptor(CLR)-Struktur, besonders in Bezug auf den Ligandenbindungsmechanismus, ergab sich aus der Charakterisierung und Strukturaufklärung verschiedener löslicher homopentamerer AChBPs.

Das AChBP hat die gleiche allgemeine Struktur wie der extrazelluläre Teil des nAChR^[38] und enthält das für ligandenbindende Rezeptoruntereinheiten typische vicinale Cysteinpaaar. AChBPs werden von Gliazellen im ZNS von Mollusken sezerniert, z. B. der Süßwasserschnecke *Lymnaea stagnalis* (*Ls*-AChBP)^[39] und der Meerschnecke *Aplysia californica* (*Ac*-AChBP), die nur 33 % Aminosäureidentität mit *Ls*-AChBP hat, jedoch alle bei *Ls*-AChBP identifizierten funktionalen Reste aufweist.^[40] *Ac*-AChBP zeigt eine ähnlich hohe Empfindlichkeit sowohl für Neonicotinoide als auch für

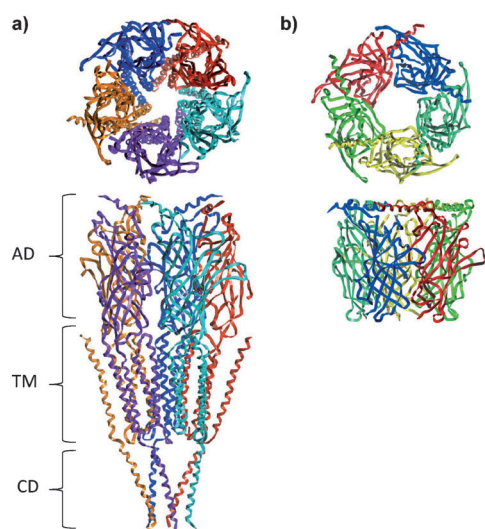


Abbildung 5. a) Dreidimensionale (3D-)Struktur von *Torpedo-marmorata*-nAChR in Seitenansicht (oben) und entlang des Kanals betrachtet (unten). Die Agonisten-Bindungsdomäne, Transmembrandomäne und zytoplasmatische Domäne werden als „AD“, „TM“ bzw. „CD“ bezeichnet. b) Die entsprechenden Ansichten der 3D-Struktur von *Ac*-AChBP. Die Bilder wurden aus den PDB-Einträgen 2BG9 und 2BYN erstellt, siehe Lit. [35a] und [35b].

Nicotinoide wie (*S*)-(-)-Nicotin, *Ls*-AChBP hingegen geringere Neonicotinoid- und höhere Nicotinoid-Empfindlichkeiten (Tabelle 4).^[41]

Tabelle 4: Kristallstrukturen von Mollusken-AChBPs in apo-Form und im Komplex mit natürlichen und kommerziellen nAChR-Agonisten, nach Auflösung in Å sortiert.

PDB-ID ^[a]	Organismus ^[b]	Ligand ^[c]	Auflösung	Jahr
2XZ5	<i>Ac</i>	ACh	2.80	2010
2ZJV	<i>Ls</i>	12	2.70	2008
2ZJU	<i>Ls</i>	7	2.58	2008
3C79	<i>Ac</i>	7	2.48	2008
1UW6	<i>Ls</i>	(<i>S</i>)-(-)-Nicotin	2.20	2004
2BYN	<i>Ac</i>	apo-Form	2.02	2005
3C84	<i>Ac</i>	8	1.94	2008
2Y7Y	<i>Ac</i>	apo-Form	1.90	2011

[a] Nomenklatur folgt der jeweiligen Nummerierung in den PDB-Dateien. [b] *Ac* = *Aplysia californica*, *Ls* = *Lymnea stagnalis*. [c] ACh = Acetylcholin.

2005 beschrieb Unwin eine verfeinerte (kryo-)elektromikroskopische Struktur des heteropentameren Wirbeltermuskeltyprezeptors mit erheblicher Strukturähnlichkeit mit der *Ls*-AChBP-ligandenbindenden Domäne (LBD; Abbildung 5).^[35a]

4.2. Agonisten-Bindungsstelle

Die ACh-Bindungsstelle des nAChR befindet sich in der hydrophilen extrazellulären Domäne des nAChR an der

Grenzfläche zweier benachbarter Untereinheiten und wird von sechs verschiedenen Regionen in der N-terminalen extrazellulären Domäne gebildet (Schleifen A–F), wozu jede der benachbarten Untereinheiten drei Schleifen beiträgt.^[42] Mehrere Studien haben die Identifizierung wichtiger Wechselwirkungen ermöglicht, die zur Bindung von Liganden wie ACh und (*S*)-(-)-Nicotin an der Agonisten-Bindungsstelle der nAChRs führen, die auch bei AChBP konserviert ist.^[43]

4.3. Mechanismus der Agonistenbindung

Bevor AChBP intensiv kristallographisch bearbeitet wurde und somit Bindungstaschen für rationales Design von nAChR-Agonisten verfügbar waren, wurden dreidimensionale Anordnungen molekularer Merkmale, die den nAChR-Liganden gemein sind, in so genannten „Pharmakophoren“ abgebildet (siehe Abschnitt 2.2). Bereits frühzeitig wurden „nicotinische Pharmakophore“ definiert, die aber entweder nicht alle spezifischen Bindungsdaten berücksichtigten oder von pharmakologischen Daten abgeleitet wurden.^[44] In jüngerer Zeit wurden AChBPs mit gebundenen nAChR-Agonisten kokristallisiert, was detaillierte Strukturinformationen lieferte. So konnten die wichtigsten Wechselwirkungen und die beteiligten Aminosäuren identifiziert werden (Tabelle 4). Die hochaufgelösten Kristallstrukturen von Mollusken-AChBPs im Komplex mit den nAChR-Agonisten **7**, **8** und **12** (Tabelle 4^[45], Abbildung 6) haben Bindungsorientierung und molekulare Erkennung für ihre charakteristischen elektro-negativen *N*-Nitroimino- oder *N*-Cyanimino-Pharmakophore gezeigt, im Unterschied zu einer kationischen Funktionalität nicotinischer Agonisten wie (*S*)-(-)-Nicotin.^[46]

Abbildung 6 vergleicht die Modi der Bindung von (*S*)-(-)-Nicotin und Imidacloprid (**7**) an AChBP aus *A. californica* und *L. stagnalis*. Die Abbildung wurde aus den PDB-Einträgen 1UW6 ((*S*)-(-)-Nicotin im Komplex mit *Ls*-AChBP;^[42b] Abbildung 6b), 2ZJU (**7** im Komplex mit *Ls*-AChBP;^[45b] Abbildung 6d) und 3C79 (**7** im Komplex mit *Ac*-AChBP;^[45a] Abbildung 6e) erstellt. Abbildung 6c zeigt ein Modell des Modus der Bindung von (*S*)-(-)-Nicotin an *Ac*-AChBP auf der Grundlage von 3C79 und 1UW6. Zur besseren Lesbarkeit wurden an der Ligandenbindung beteiligte Wasserstoffatome für die Abbildungen 6b–e modelliert.

In jedem der vier Fälle umgeben aromatische Aminosäuren das protonierte Ladungszentrum des (*S*)-(-)-Nicotins oder das positiv polarisierte π -System des *N*-Nitroguanidins von **7**. Darüber hinaus vermittelt ein konserviertes Wassermolekül eine Wasserstoffbrücke zwischen den Pyridin-Stickstoffatomen von sowohl **7** als auch (*S*)-(-)-Nicotin und dem Rückgrat der D-Schleife vom AChBP. Bei Überlagerung mehrerer Röntgenkristallstrukturen von AChBP im Komplex mit nAChR-Agonisten ist die Position dieses Wassermoleküls auffallend konserviert, was dessen große Bedeutung für die Ligandenbindung illustriert. Wegen der Protonierung von (*S*)-(-)-Nicotin unter physiologischen Bedingungen ist eine Wasserstoffbrücke zum Rückgrat-Tryptophan (W143) wahrscheinlich (Abbildung 6b,c). Eine analoge Wasserstoffbrücke wird bei der Bindung von Clothianidin (**12**) im Komplex mit *Ac*-AChBP beobachtet, wobei die Wasserstoffbrücke zu

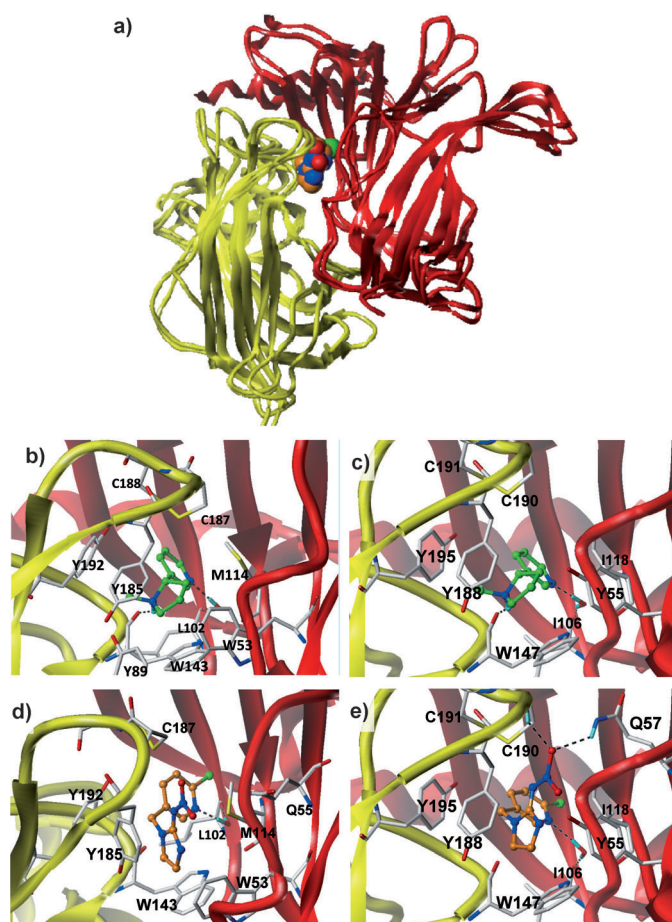


Abbildung 6. Modi der Bindung von Imidacloprid (**7**) und (S)-(-)-Nicotin an Ac-AChBP und Ls-AChBP. a) Überlagerung zweier benachbarter Monomere, erstellt aus den PDB-Einträgen 3C79, 1UW6 und 2ZJU. Nur für letzteren ist der Ligand **7** dargestellt. In den übrigen Bildern sind die jeweiligen Strukturen – aus ähnlichen Perspektiven heraus – vergrößert dargestellt. b) Bindung von (S)-(-)-Nicotin an Ls-AChBP (PDB-ID 1UW6). c) Bindung von (S)-(-)-Nicotin an Ac-AChBP (Modell aus 3C79 erstellt). d) Bindung von **7** an Ls-AChBP (aus 2ZJU erstelltes Modell). Bindung von **7** an Ac-AChBP (aus 3C79 erstelltes Modell).

W143 über eine NH-Einheit seines Guanidinzentrums zu verlaufen scheint (nicht gezeigt, Ihara et al.^[45b]). Ein Vergleich der Bindungsarten von **7** mit Ls- und Ac-AChBP offenbart feine, aber entscheidende Unterschiede in Schleife D. Bei Ac-AChBP bildet die N-Nitroiminogruppe eine Wasserstoffbrücke zu einem Glutaminrest (Q57; Abbildung 6e). Keine solche Wechselwirkung findet sich bei Ls-AChBP (Abbildung 6d,e).

Als Ergebnis dieser Wechselwirkungen stimmen die Pyridinringe von Imidacloprid (**7**) und (S)-(-)-Nicotin sehr gut überein, wenn man ihre gebundenen Konformationen mit AChBP überlagert. Der elektronegative [N-C(N)=N-NO₂]-Pharmakophor von **7** und das positiv geladene Zentrum von (S)-(-)-Nicotin zeigen jedoch in entgegengesetzte Richtungen, was in der Literatur als „inverse Pharmakophore“ bezeichnet wird (vgl. Abbildung 6b–e). Diese Bindungsweisen sind auch mit den beobachteten Bindungsaffinitäten in Einklang.^[41a] Die Bindungskonstanten der Bindung von (S)-(-)-

Nicotin an Ls- und Ac-AChBP liegen in der gleichen Größenordnung, während 7 Verzehnfachung der Affinität von Ls-AChBP zu Ac-AChBP zeigt, was die zusätzliche Wasserstoffbrücke an Glutamin Q57 widerspiegelt.

Die unterschiedliche Stärke der Bindung von Neonicotiniden und Nicotiniden an Ac- und Ls-AChBP wird häufig für die These verwendet, dass diese beiden Proteine stellvertretend das Verständnis der Selektivitäten dieser Stoffklassen gegenüber nAChRs in Insekten und Vertebraten fördern könnten. In diesem Zusammenhang sind Homologiemodelle der Rezeptordomäne von nAChR interessant, um die Gültigkeit und die Grenzen dieser Annahme zu verstehen.

In den Kristallstrukturen der AChBPs erkennt man konserviert wiederkehrende Architekturen, die schon mehrfach als Template zur Erstellung von Homologiemodellen der extrazellulären Domäne von nAChRs herangezogen wurden.^[40b,41a,47] Diese Modelle ermöglichen ein strukturbasiertes Verständnis der atomaren Details der subtypspezifischen nAChR-Agonistenbindung.

Nach einem ähnlichen Verfahren^[48] wurden, ausgehend von der Röntgenkristallstruktur von Ls-AChBP (PDB-ID 119B), Homologiemodelle für die $\beta 1$ -Untereinheit der Rezeptordomäne von nAChR aus der Grünen Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae* SULZER) erstellt.^[99] Ebenso wurden für die fünf Untereinheiten α_{1-5} -Modelle erzeugt. Da die genaue Zusammensetzung des sensitiven Insektenrezeptors nach wie vor unbekannt ist, wurde ein Konsensusmodell aller fünf α -Untereinheiten erstellt und gemeinsam mit dem Modell der $\beta 1$ -Untereinheit auf ein Dimer, das aus dem homopentameren AChBP in seinen Komplexen mit Imidacloprid (**7**), Thiocloprid (**8**) und Clothianidin (**12**) extrahiert wurde, strukturbasiert (siehe Tabelle 4 für die jeweiligen PDB-IDs).

Das schließlich erhaltene Dimermodell der Rezeptordomäne ermöglicht die Untersuchung des Bindungsmodus von Imidacloprid (Abbildung 7). Ein Cluster von konservierten Aminosäureresten sowohl der α - als auch der β -Untereinheit umgibt und stabilisiert die N-Nitroguanidinsgruppe. Das Stickstoffatom des 6-Chlorpyridin-3-ylmethylrests bildet eine wasservermittelte Wasserstoffbrücke zum Rückgrat der β -Untereinheit der D-Schleife. Insofern ist die Situation sehr analog zu der bei AChBP (Abbildung 6). Beim sensitiven Wildtyp der Grünen Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER) kann eine Argininseitenkette – wieder von Schleife D – eine zusätzliche Wasserstoffbrücke mit der N-Nitroiminogruppe der Neonicotinoide bilden. Die durch diesen Rest eingeführte positive Ladung verstärkt die Bindung, indem vermittelt Elektronendispersion die π - π -Wechselwirkung mit den aromatischen Aminosäuren intensiviert wird: Dieser Effekt lässt sich mit korrelierten Ab-initio-Rechnungen quantifizieren und liegt in der Größenordnung von 4–6 kcal mol^{−1}.^[49] Diese Situation ist in Abbildung 7d dargestellt. Die nAChRs der resistenten Mutante der Grünen Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER) sowie des Menschen tragen einen ungeladenen Threoninrest an dieser Position, der nicht nur außerstande zur Bildung von Wasserstoffbrücken ist, sondern auch die π - π -Wechselwirkung nicht verstärken kann (Abbildung 7c). Sowohl bei Ac- als auch bei Ls-

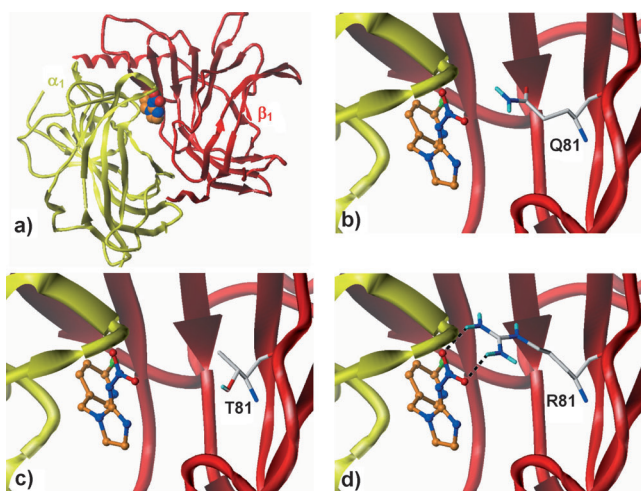


Abbildung 7. Die R81T-Schlüsselmuation in Modellen der agonistenbindenden nAChR-Domänen der Grünen Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER). Die β_1 -Untereinheit ist rot dargestellt; nur eine der fünf möglichen Untereinheiten α_1 – α_5 ist gelb gezeigt; (b) zeigt eine Übersicht mit **7** als Kalottenmodell. Alle vier Bilder zeigen die gleiche Perspektive. Auf (b)–(d) ist der Ligand **7** als Kugel-Stab-Modell mit orangefarbenen Kohlenstoffatomen dargestellt, und die Aminosäuren an der resistenzvermittelnden Mutationsstelle 81 werden als Stabmodelle gezeigt.

AChBP nimmt ein Glutamin diese entscheidende Position ein, kommt aber nur im Falle von Ac-AChBP der N-Nitroiminogruppe nah genug, um eine Wasserstoffbrücke bilden zu können (Abbildung 6e); Glutamin ist natürlich nicht in der Lage, per Dispersion in der beschriebenen Weise auf die π - π -Wechselwirkung Einfluss zu nehmen, wie dies eine geladene Funktion könnte (Abbildung 7b).

5. Biologisches Profil und Anwendungsaspekte

Die landwirtschaftlichen und gartenbaulichen Anwendungen von nAChR-Agonisten wie Neonicotinoidinsektiziden sind enorm, wie ein globaler Umsatz von deutlich über 2.6 Mrd. \$ für die gesamte chemische Klasse zeigt. Daher würde es den Rahmen dieses Aufsatzes sprengen, alle Anwendungsaspekte abzudecken, die für diese Stoffklasse und ihre Verwendung als Insektizide an mehr als 100 Kulturpflanzen weltweit gegen landwirtschaftliche Schädlinge ebenso wie gegen Haushaltsschädlinge und als Ektoparasitizide für die Tiergesundheit relevant sind. Ihr agronomisches Profil sowie ihre Wirksamkeit wurden in einer Reihe von umfassenden Artikeln in den letzten 15 Jahren bewertet, weswegen dieser Abschnitt 5 nur kurz einige Aspekte beleuchten soll und wir einen Blick auf einige der kürzlich veröffentlichten Übersichtsartikel als weiterführende Literatur zu den biologischen Aspekten empfehlen.^[13, 14, 18, 24, 50]

Aufgrund einiger wichtiger Substanzeigenschaften, nämlich schneller Blatt- und Wurzelaufnahme, Translokation in die Blattspitzen, ausgezeichneter akuter und persistierender Wirksamkeit besonders gegen saugende, blattminierende und käferartige Schädlinge – einschließlich von gegenüber anderen chemischen Klassen resistenten Populationen wie Blattläusen, Weißen Fliegen, Zikaden, Miniermotten, Kartoffel-

käfern, Reissüsselkäfern und anderen – sind Neonicotinoide die vielseitigsten Insektizide für ein breites Spektrum von Nutzpflanzen. Doch nicht nur Nutzpflanzenschädlinge werden durch diese Insektizide bekämpft; viele werden auch zur Bekämpfung Haushaltsschädlingen und urbanen Schadinsekten einschließlich Termiten, Ameisen, Kakerlaken und Stubenfliegen sowie Rasenschädlingen wie Engerlingen verwendet (Abbildung 8).

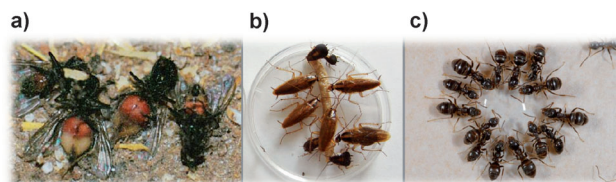


Abbildung 8. Neonicotinoidanwendungen in der urbanen Entomologie. a) Bekämpfung von Stubenfliegen durch Wandanstrich, b) Schaben mithilfe von Gelen sowie c) Ameisen durch Einsatz von Ködern.

Veterinärmedizinisch sind mehrere Neonicotinoide wichtig, z. B. zur Bekämpfung von Katzen- und Hundeflöhen (*Ctenocephalides felis* und *C. canis*).^[6, 18] Die physikochemischen Eigenschaften machen sie einzigartig hinsichtlich der Vielfalt der möglichen Anwendungsverfahren, z. B. Bodenbehandlungen durch Granulate oder Spritzung, Saatgutbehandlung, Stamminjektion, Anstreichen, Eintauchen, Ködergele und natürlich Sprühen. Einige der Anwendungsverfahren wurden nur aufgrund der Verfügbarkeit von Neonicotinoiden eingeführt und haben die integrierten Bekämpfungsansätze revolutioniert.^[50] Die folgenden Abschnitte gehen kurz auf einige der obigen Anwendungsaspekte ein.

5.1. Bekämpfung von Virusvektoren

Virale und bakterielle Erkrankungen von Pflanzen sind weltweit von zunehmender Bedeutung und können wegen der Übertragung durch einen auch als Vektor bezeichneten Schädling gravierende Auswirkungen auf Qualität und Ertrag einmal befallener Kulturpflanzen haben. Phytopathogene Viren werden hauptsächlich durch saugende Insekten wie Blattläuse, Weiße Fliegen, Thripse und Zikaden übertragen. Natürlich schädigen Blattläuse und andere saugende Schädlinge wie Weiße Fliegen die Pflanzen durch Fraß, aber die indirekten Schäden durch die Übertragung von Viruserkrankungen sind in vielen Fällen eine größere Bedrohung. Die Grüne Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER) ist ein bekannter Vektor für mehr als 150 Viruserkrankungen. Allerdings können sich Weiße Fliegen wie *Bemisia tabaci* auf mehr als 500 Wirtspflanzen vermehren und sind sogar noch schädlicher durch die Übertragung von Pflanzenkrankheiten; so gingen z. B. von 1997 bis 2000 mehr als 11 000 Arbeitsplätze in der brasilianischen Tomatenindustrie wegen durch die Weiße Fliege übertragener Geminiviren verloren.^[51] Viruserkrankheiten werden allgemein in nicht-persistente (Übertragung innerhalb von Sekunden) und persistente (längere Saugzeiten nötig) eingeteilt. Viele Neonicotinoidinsektizide sind dafür

bekannt, wegen ihrer schnellen systemischen Wirkung auf saugende Virusvektor-Schadinsekten indirekt die Ausbreitung von Pflanzenviren in behandelten Pflanzenbeständen zu verhindern. Imidacloprid (**7**) zeigt hervorragende Virussuppressionswirkung gegenüber dem von der Haferblattlaus (*Rhopalosiphum padi* L.) und der Getreideblattlaus (*Sitobion avenae* F.) übertragenen Gerstengelverzweigungsvirus (BYDV).^[52] Weitere Beispiele sind Zuckerrübensaatpillierung mit **7** zur Verhinderung der Übertragung des milden Zuckerrübenvergilbungsvirus (BMYV)^[53] und Blattanwendung bei Tomaten gegen Weiße Fliegen zur Verhinderung der Übertragung des Tomatenvergilbungsvirus (TYLCV).^[54]

5.2. Innovative Formulierungskonzepte

Aufnahme und Translokation in planta systemisch wirkender Insektizide wie Neonicotinoide und anderer neuer nAChR-Agonisten hängen von den Einsatzbedingungen ab, um maximale Wirksamkeit zu erreichen, was durch moderne Formulierungskonzepte beeinflusst werden kann, die auf der Basis ihrer physikochemischen Eigenschaften auf beste Leistung zugeschnitten werden können. Solche Konzepte wurden ausführlich besprochen,^[55] daher werden in der Folge nur zwei sehr aktuelle Beispiele für Formulierungsinnovationen bei Bayer CropScience AG kurz beschrieben, nämlich die Öldispersionstechnik für Blattanwendungen und eine Technik, die zur Verbesserung von Pflanzenschutz und Ertrag konventionelle Saatgutbehandlung mit biologischen Bekämpfungsmitteln verbindet.

Bayer CropScience AG hat vor kurzem ein Formulierungskonzept eingeführt, das die Inkompatibilität zwischen Wasser und Öl überwindet. Die Technik heißt O-TEQ (Oil Dispersion, OD) und wurde z. B. für **7** (Confidor O-TEQ 200) und **8** (Biscaya OD 200) kommerziell eingesetzt.^[56]

Die OD-Formulierung wird beschrieben als „*stabile Suspension der Wirkstoffe in einer mit Wasser nicht mischbaren Flüssigkeit, die andere gelöste Wirkstoffe enthalten kann, vorgesehen zur Verdünnung mit Wasser vor der Verwendung*“.^[57] Die OD-Technik bietet neue Möglichkeiten bei der Aufnahme und dem Transport systemischer Agonisten des nAChR in Pflanzengewebe und Schadinsekten. Besonders Regenfestigkeit und Penetration nach Blattdüngung sind mit OD-Formulierungen höher als bei anderen Formulierungstypen wie SC (Suspension Concentrate, SC), wie in Abbildung 9 gezeigt. Neonicotinoid-Formulierungskonzepte wie O-TEQ können Landwirten bei der nachhaltigen Bekämpfung von Schädlingen helfen, indem sie die Auswirkungen von Umweltfaktoren auch unter ungünstigen Bedingungen wie Regen kurz nach der Behandlung reduzieren.

Ein zweites, vor sehr kurzer Zeit eingeführtes Verfahren (Erstzulassung 2010) ist eine Kombination von Clothianidin (**12**) und Sporen des natürlich vorkommenden Bakteriums *Bacillus firmus* zur Saatgutbehandlung von Mais, Baumwolle und Sojabohnen. Die Kombination zur Saatgutbehandlung wird unter dem Markennamen Poncho/Votivo beispielsweise für Mais vermarktet und schützt junge Pflanzen vor Schädlingen wie Ypsilonenulen (*Agrotis ypsilon* ROTTEMBERG) und Drahtwürmern (*Melanotus* spp., *Agriotes* spp.) während der

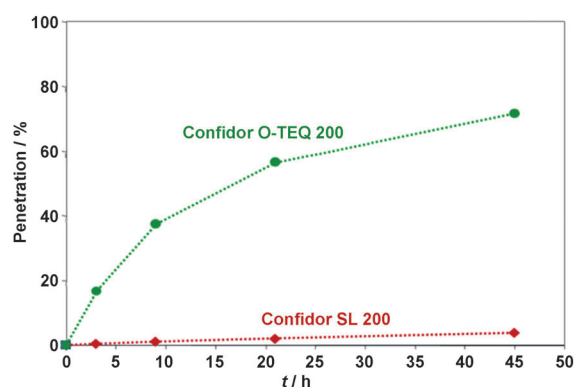


Abbildung 9. Kinetik der Penetration von SC-200- und O-TEQ-200-Formulierungen von **7** durch isolierte Apfelblattkutikeln (Daten von R. Pontzen, Bayer CropScience AG).

kritischen frühen Entwicklungsstadien, was zu einer gesünderen Entwicklung der Wurzeln und stärkerem Stand führt. Direkt auf das Saatgut aufgebracht, schützt die Kombination zum Beispiel Sojapflanzen über und unter der Erde, d. h., sie verhindert Schäden an Keimlingen durch Blattläuse (über **12**) und an Wurzeln durch Sojabohnen-Zystennematoden (über *B. firmus*).

6. Phytotonische Wirkungen

Umgebungsbedingungen beeinflussen bekanntermaßen Pflanzenwachstum und Ertrag sowie Produktqualität; z. B. können ungünstige Wetterbedingungen wie Dürrestress oder Nährstoffmangel in Abhängigkeit von der Zeitskala der Exposition gegenüber solchen widrigen Bedingungen erhebliche Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum haben.^[58] Widrige und belastende Umstände beeinträchtigen die Energiebilanz der Kulturen und können zu weniger Erzeugung der Energie führen, die für richtiges Wachstum, Ertrag und anschließende Qualitätsmerkmale nach der Ernte notwendig ist. Daher sind maximales Wachstum, Entwicklung der Pflanzen und höchstmögliches Ertragspotenzial in der Regel weit entfernt von dem, was ohne Stressfaktoren erhalten werden könnte. Nach der Einführung von Imidacloprid (**7**) in den Pflanzenschutz wurden zahlreiche Beobachtungen zu pflanzenstimulierenden (so genannten phytotonischen) Effekten gemacht, die nicht mit einer Verringerung des Schädlingsdrucks korreliert werden konnten. Es wurde gefunden, dass Verbindungen wie **7** und **9** das Pflanzenwachstum stimulieren und damit zu höheren Ausbeuten unter Bedingungen führen können, die normalerweise Pflanzen durch abiotischen Stress weniger produktiv machen.^[14c, 59]

6.1. Auswirkungen auf die Pflanzengesundheit und Überwindung von Umweltstress

Die Zahl der Studien, die die Auswirkungen von Neonicotinoiden auf abiotischen Stress bei Pflanzen gründlich untersuchen, ist recht begrenzt; es wurde jedoch eine der aus-

fürhlichsten Studien mit Imidacloprid (**7**) an Gerste unter kurzfristigen Trockenstressbedingungen durchgeführt. Die mit **7** getränkten Pflanzen zeigten besseres Wachstum, und die Genexpressionsanalyse ergab, dass die Expression von Dürrestressmarkergenen verzögert wurde, was zu weniger ausgeprägtem Rückgang der photosynthetisch getriebenen Energieerzeugung führte.^[58] Gewächshausstudien mit *Arabidopsis thaliana* demonstrierten auch das Potenzial von **7**, Überleben und Wachstum unter Trockenstressbedingungen zu verbessern (Abbildung 10).

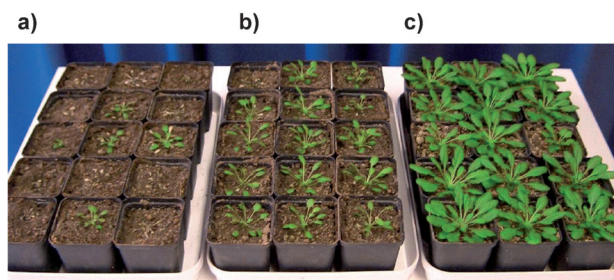


Abbildung 10. Wachstumsrate und Überleben von *Arabidopsis thaliana*. a) Trockenstress unbehandelt. b) Trockenstress plus **7** (0.5 mg pro Topf). c) Ohne Stress.

2004 bestätigten Feldversuche das Potenzial von **7**, mäßigen Trockenstress bei Pflanzen, mit einer durchschnittlich 10-prozentigen Ertragssteigerung bei Baumwolle, zu lindern.^[60–62] Diese Befunde zeigen deutlich, dass **7** abgesehen von seiner insektiziden Wirkung auch Pflanzen bei der Milderung der Auswirkungen von abiotischem und biotischem Stress unterstützt, und es wird spekuliert, dass die beobachteten Effekte möglicherweise systemisch durch den im Phloem mobilen Imidaclopridmetaboliten 6-Chlornicotinsäure (6-CNA) induziert werden. Erste experimentelle Belege für Wirkungen von 6-CNA wurden durch den Nachweis der Induktion von salicylatassoziierten Pflanzenabwehrmechanismen bei *A. thaliana* erbracht.^[63]

7. Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Vor der Verfügbarkeit von Cokristallstrukturen war rationales Design auf ligandenbasierte Ansätze beschränkt. Diese waren relativ erfolgreich, was vielleicht durch den Umstand gefördert wurde, dass zumindest die Bindung von (*S*)-(-)-Nicotin und seinen Analoga mehr durch Enthalpie als durch Entropie angetrieben wird.^[42b] Enthalpiebeiträge sind der Berechnung weit besser zugänglich als Entropiebeiträge.

7.1. Elektrostatische Potentiale

Elektrostatik ist ein Hauptantrieb molekularer Erkennungsprozesse. Besonders für nAChR-Agonisten wie Neonicotinoide wurde die Elektrostatik dieser Verbindungen schon sehr früh als wichtiger Faktor identifiziert und sowohl

für qualitative als auch für quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen (QSAR) verwendet.^[41b,64]

Abbildung 11 zeigt die elektrostatischen Potentiale (ESPs) sieben kommerzieller nAChR-Agonisten (siehe auch

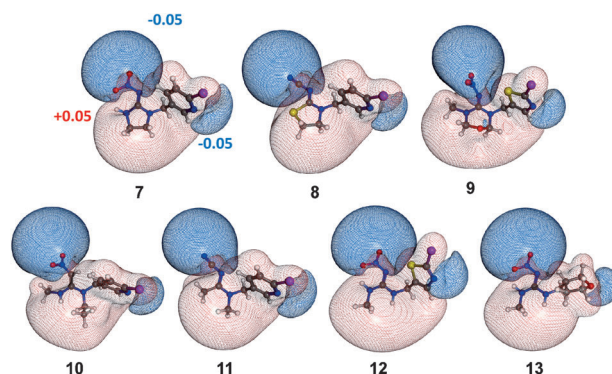


Abbildung 11. Isoflächen der ESPs der nAChR-Agonisten **7–13**. Die ESPs wurden direkt aus DFT-Elektronendichten anstatt von Atomladungen berechnet. Ein positives und ein negatives Isoniveau ist für jedes Molekül dargestellt; die jeweiligen Werte sind in atomaren Einheiten (au) angegeben. Die Berechnung erfolgte gemäß Literatur.^[65]

Abbildung 2). Die ESP wurde mithilfe der Dichtefunktionaltheorie (DFT) berechnet. Alle diese Moleküle haben ein ausgeprägtes Dipolmoment. Die räumliche Ähnlichkeit der ESPs ist höher, als es die Breite der chemischen Variation vermuten ließe.

Alle Moleküle weisen zwei Regionen mit dominant negativem ESP auf, von denen die erste vom freien Elektronenpaar des Stickstoffatoms in den 6-Chlorpyridin-3-ylmethyl/2-Chlor-1,3-thiazol-5-ylmethyl-Gruppen erzeugt wird (oder im Falle des Tetrahydrofuran-3-ylrings in Dinotefuran (**13**) vom Sauerstoffatom und seinen freien Elektronenpaaren). Die elektronegativen Pharmakophore generieren die zweite Region von negativem ESP. Im Rezeptor fungieren diese Molekülteile als Wasserstoffbrückenakzeptoren, wie in Abschnitt 4 diskutiert. Der ausgeprägte „Wulst“ von positivem ESP passt sehr gut in die Umgebung aromatischer π -Systeme, die von aromatischen Aminosäuren in der Binde-tasche des nAChR gebildet wird.

Alignments der Moleküle nicht anhand der Kernpositionen, sondern nur aufgrund ihres ESP ergeben molekulare Überlagerungen, die den von Cokristallstrukturen abgeleiteten Überlagerungen überraschend gut entsprechen. In Abschnitt 4.3 und Abbildung 6 wurden die Unterschiede der Rezeptorbindung von (*S*)-(-)-Nicotin und **7** bereits diskutiert, wobei die umgekehrten Orientierungen der jeweiligen kationischen und elektronegativen Pharmakophore hervorgehoben wurden. Abbildung 12 betont die Unterschiede der protonierten Formen von (*S*)-(-)-Nicotin und **7**, die erwartungsgemäß nicht übermäßig viele Ähnlichkeiten hinsichtlich der Elektrostatik teilen.

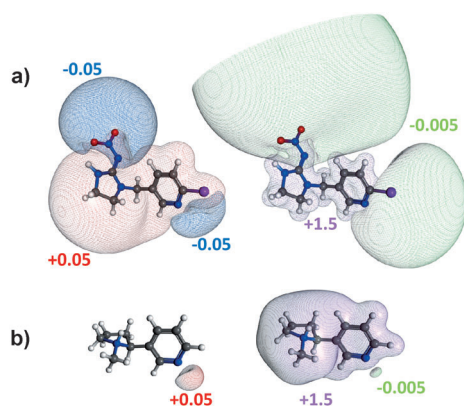


Abbildung 12. a) Isoflächen der ESPs von **7**. b) Protoniertes (S)-(-)-Nicotin. Siehe Abbildung 11 für Details der Berechnung. Vier Isoniveaus sind für jedes Molekül dargestellt; die jeweiligen Werte sind in atomaren Einheiten (au) angegeben. Die Isofläche des ESP bei -0.05 au kann für das protonierte (S)-(-)-Nicotin nicht visualisiert werden.

7.2. Lokale Reaktivitätsdeskriptoren für Metabolismus-Untersuchungen

Die Anwendung der Dichtefunktionaltheorie, vorangetrieben von der Arbeit von Yang und Parr,^[66] hat eine solide Grundlage für theoretische Konzepte des chemischen Denkens z.B. hinsichtlich Elektronegativität, Härte und Weichheit geliefert. Die Fukui-Funktion $F(\mathbf{r})$ ^[67] bietet eine einfache Möglichkeit zur Berechnung lokaler Reaktivität. Sie ist als partielle Ableitung der Elektronendichte in Bezug auf die Elektronenzahl N bei einer festen Anordnung der Kerne (= molekularen Geometrie) $V[\mathbf{r}]$ definiert. $F(\mathbf{r})$ spiegelt somit die Zugänglichkeit eines Moleküls für Veränderungen der Elektronendichte an einem bestimmten Punkt im Raum \mathbf{r} wider. Die rechten und linken Ableitungen der Elektronendichte sind unterschiedlich, was chemisch als Angriff durch ein Elektrophil bzw. Nukleophil interpretierbar ist.

Fukui-Funktionen können verwendet werden, um elektrophile und nukleophile Angriffspunkte für ein bestimmtes Molekül abzuschätzen. Es hat sich gezeigt, dass die Maxima der Fukui-Funktion für den elektrophilen Angriff zur Vorhersage von möglichen Angriffspunkten für oxidativen Metabolismus genutzt werden kann, wobei die Interpretation einige Erfahrung und chemische Intuition erfordert.^[65] Darüber hinaus eignen sich Fukui-Funktionen auch als molekulare Felder für 3D-QSAR-Methoden und haben sich insbesondere in 3D-QSAR-Modellen für nAChR-Aktivität-Bindungsaffinitäten bewährt.^[68]

Abbildung 13 zeigt die Fukui-Funktionen kommerziell erhältlicher nAChR-Agonisten (siehe auch Abbildung 2). Die Maxima der Fukui-Funktion für einen elektrophilen Angriff an den CH_2 -Wasserstoffatomen im Fünfringsystem von Imidacloprid (**7**) lassen sich beispielsweise sehr gut mit den experimentell beobachteten metabolischen Hydroxylierungen an genau diesen Positionen in Verbindung bringen (siehe dazu die grünen Isoflächen in Abbildung 13).

Das gleiche gilt für Thiamethoxam (**9**), dessen metabolische Ringöffnung zum Clothianidin (**12**)^[16a-d] auch aus den

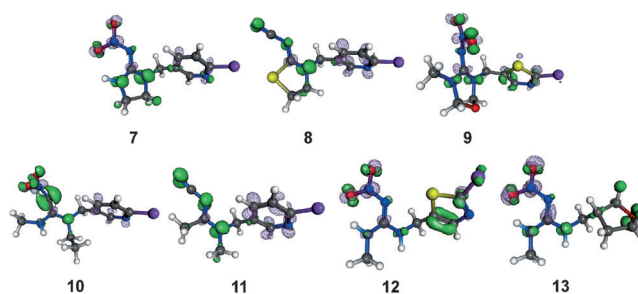


Abbildung 13. Isoflächen der Fukui-Funktionen für elektrophilen (grün, fest; Isoniveau 0.05 au) und nukleophilen Angriff (purpurn, Netzdarstellung; 0.05 au), berechnet anhand von DTF-Elektronendichten^[65] für Ringsysteme (**7–9**) und nicht-cyclische Strukturen (**10–13**). Anordnung der Moleküle wie in Abbildung 2.

Fukui-Funktionen in Abbildung 13 vorhergesagt werden kann.

8. Aktuelle Trends

Derzeit wird das weltweite Umsatzwachstum von nAChR-Agonisten wie Neonicotinoidinsektiziden zunehmend durch Generika (patentfreie Produkte) beeinträchtigt. Nachdem Imidacloprid (**7**) 2006 in vielen Ländern zum Generikum wurde, läuft der Patentschutz für weitere kommerzielle Verbindungen wie **8–13** (siehe Abschnitt 1.1) 2013 aus. Dies führte bereits zur Herstellung patentfreier Produkte (China, Indien), und ein zunehmender Preisverfall dürfte die Entwicklung der Schädlingsresistenz gegen die Neonicotinoid-Insektizidklasse (siehe Abschnitt 5) begünstigen.^[69] Daher sind die Entdeckung und Entwicklung neuer nAChR-Agonisten zur Überwindung metabolischer Resistenz wesentlich; allerdings können Mutationen kritischer Aminosäuren in nAChR-Untereinheiten die Situation für jeden neuen Agonisten mit Bindungsweise ähnlich jener der Neonicotinoide und Nicotinoide verkomplizieren.

8.1. Literatur-inspirierter Ansatz

Seit einigen Jahren werden wichtige patentfreie Zwischenprodukte wie CCMP (**15**) und CCMT (**21**), Bausteine wie **17** (Schema 2) und Methyl-*N*-cyanacetimidat (Zwischenprodukt für **11**) oder die Nitromethylene NTN32692 (**6**) und Nitenpyram (**10**) (siehe Abschnitt 1.1) in noch größerem Maß zur Fragmentkombination oder pharmakophorbasierten Modifikation verwendet (siehe Abschnitt 8.2.2).^[70] Derzeit enthalten die meisten in China entwickelten neonicotinoidbasierten Insektizide nur marginale Strukturvariationen gegenüber bekannten kommerziellen Produkten und damit keine weitere Innovation. Zum Beispiel führte die Kombination des bioisosteren 2-Chlor-1,3-thiazol-5-ylmethylfragments mit **17** oder *N*-Cyan-*N'*-methylethanimidamid zu Imidaclothiz (**25**; Name in China genehmigt, kein ISO Common Name) und JT-L001 (**26**; Abbildung 14).

Obgleich die beiden chemischen Strukturen bereits zusammen mit denen von Imidacloprid (**7**)^[71] und Acetamiprid

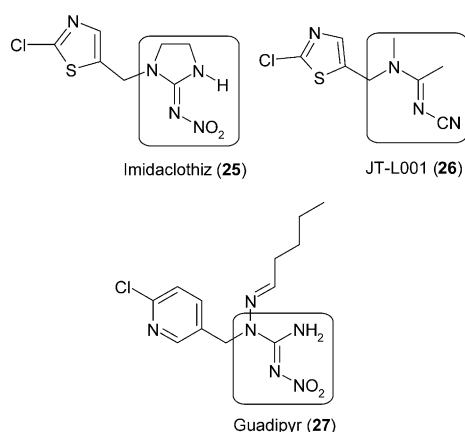


Abbildung 14. Chemische Strukturen von Imidaclothiz (**25**), JT-L001 (**26**) und Guadipyr (**27**).

(**11**) veröffentlicht wurden,^[72] kam **25** vor kurzem in China als so genanntes „neues Neonicotinoidinsektizid“ von Nantong Jiangshan Agrochemie und Chemicals Co., Ltd. (China) zur Bekämpfung der Grünen Teezikade (*Jacobiasca formosana*) auf Tee und Blattläusen in Gemüsekulturen auf den Markt. **26** ist derzeit gleichfalls in China bei Jiangsu Tianrong Group Co., Ltd. (China) in Entwicklung.^[72b] Guadipyr (**27**)^[73] (Name in China vom National Pesticide Standardization Technical Committee genehmigt, kein ISO-Common Name) verbindet das 6-Chlorpyridin-3-ylmethylfragment mit *N*-Nitroguanidin (**16**) und einer Semicarbazon-ähnlichen Chemie (SoCh-Blocker, Indoxacarb)^[74] und wurde von China Agricultural University und Hefei Xingyu Chemical Co., Ltd. (China) zur Bekämpfung von Reiszikaden und Kohlblattläusen gemeinsam entwickelt. Die Zulassung und Markteinführung von **27** (20% SC-Formulierung) sind für 2013 geplant.

8.2. Chemorationaler Ansatz

Die chemischen und strukturellen Untersuchungen zur 3D-Struktur von AChBP im Zustand mit gebundenem Neonicotinoid (siehe Abschnitt 4) können das strategische Ligandendesign neuartiger insektizider nAChR-Agonisten mit einzigartigen Pharmakophorveränderungen oder Ersatz der Hetaryl-methylseitenkette, möglicherweise mit verschiedenen Bindungsmechanismen, unterstützen. Dies kann das verfügbare Spektrum kommerzieller nAChR-Agonisten erweitern oder Kreuzresistenz bei Insekten verhindern, die normalerweise durch erhöhten In-vivo-Stoffwechsel (siehe Abschnitt 7) und (in noch sehr seltenen Fällen) Mutation am aktiven Zentrum verursacht wird.

8.2.1. Rationales Design

Gemäß Experimenten zum Docking von Imidacloprid (**7**) in die grenzflächenständige $\alpha 2\beta 1$ -Agonisten-Bindungstasche von Blattläusen (basierend auf dem nAChR-Strukturmodell für die Grüne Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER))^[41a] wurde eine Nische jenseits der gebundenen *N*-Nitroimino-

funktion in Richtung des Arginins der D-Schleife identifiziert. Dieser Raum kann Platz für (hetero)aromatische Ringstrukturen als neuartige Pharmakophormodifikationen bieten. Daher wurden nAChR-Agonisten mit erweiterten *N*-Acyliminofunktionen [=NC(O)-R¹] konzipiert, die eine spezifische Bindung an den Bereich der D-Schleife ausweisen (Abbildung 15).^[75]

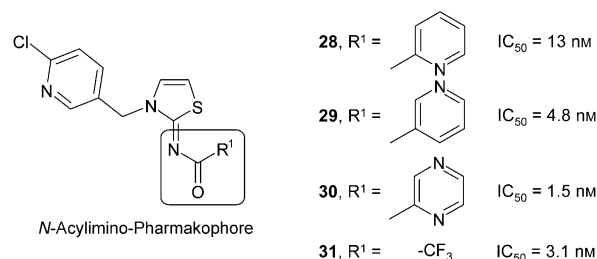


Abbildung 15. nAChR-Agonisten mit *N*-Acylimino-Pharmakophoren.

Die *N*-Acyliminoanaloga [=NC(O)-R¹] (wobei R¹ ein Wasserstoffakzeptor wie Pyridin-2-yl (**28**), Pyridin-3-yl (**29**), Pyrazin-2-yl (**30**) oder Trifluormethyl (**31**) ist) binden stark an nAChR (Affinität zu nAChR-Membranpräparationen aus *D. melanogaster*, Assay mit [³H]-7; Vergleich Thiaploprid (**8**): IC₅₀ = 2.7 nM).^[75a] In der Moleküldynamiksimulation mit dem Pyrazinylanalogon **30** wurde gezeigt, dass zwei Pyrazinstickstoffatome und der Sauerstoff der *N*-Acyliminofunktion Wasserstoffbrücken mit dem Arginin (basisches Guanidin-NH₂) und Tryptophan (Trp, Indol-NH) der D-Schleife bilden. Auch das [=NC(O)-CF₃]-Analogon **31** wechselwirkt mit den Schleifenregionen C und D durch Fluor-Wasserstoff-Wechselwirkung (direkt oder über Wasserbrücken). Die Bindung des 6-Chlorpyridin-3-ylmethylrests ist identisch mit den Bindungen von **7** und **8**.^[75d]

Spezielle nAChR-Agonisten wurden konzipiert, um die SARs am nAChR-aktiven Zentrum der Insekten zu verstehen, wobei die wasservermittelten Ligand-Protein-Wechselwirkungen im Vordergrund standen. In diesem Zusammenhang wurden 2-Nitroiminoimidazolidin-Analoga mit einem für Wasserstoffbrücken nützlichen 3-Fluorpropylrest (**32**) oder einem Carbonylsauerstoffatom in Form eines 3-Oxo-butylrests (**33**) synthetisiert (Abbildung 16).^[76]

Die SAR sagte voraus, dass Fluor und Sauerstoff an bestimmten Positionen wesentlich für Wasserstoffbrücken sind, vermutlich mit Wasserbrücken zwischen dem nAChR-Agonisten und der entsprechenden Aminosäure in der Liganden-Bindungstasche des Ac-AChBP. Das Wasser bildet eine Brücke zwischen dem Rückgrat-NH des Isoleucins (I118) und dem 3-Chlorpyridin-3-yl-Stickstoffatom (X = N) bei **7**, Fluor (X = F) bei **32** oder Carbonylsauerstoffatom (X = O) bei **33**. Der alternative H₂O-Wasserstoff bildet eine Wasserstoffbrücke zum Isoleucinrückgrat-Carbonylsauerstoffatom (I106), wie in Abbildung 16 dargestellt (siehe Abschnitt 4.3).^[76b]

Keiner der nAChR-Agonisten erreichte jedoch die Wirksamkeit von Imidacloprid (**7**) und seinen engen Analoga. Die In-vivo-Insektizidwirkung des Fluorkohlenstoffrests ist nicht kompatibel mit der des 6-Chlorpyridin-3-ylmethylrests und analoger Gruppen. 2005 wurde am Wuhan Institute of

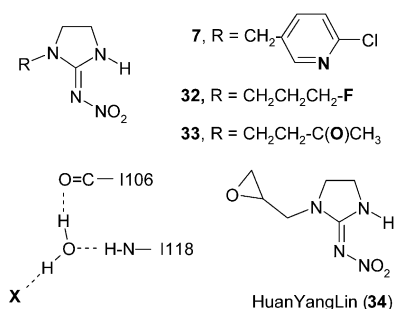


Abbildung 16. Vorhergesagte Bindungsstellen-Wechselwirkungen von 7, 2-Nitroiminoimidazolidin-Analoga (32 und 33) und HuanYangLin (34).

Technology (China) das 1-(2,3-Epoxypropyl)-*N*-nitro-2-iminoimidazolidin HuanYangLin (34)^[77] entdeckt. Wegen seiner empfindlichen Strukturgruppen kann nach Aufheizen auf 104 °C ein sehr heftiger exothermer Effekt mit starker Wärmeabgabe beobachtet werden ($\Delta H = 4059 \text{ J g}^{-1}$; Bayer CropScience AG, unveröffentlichte Ergebnisse). Dennoch wird ein Herstellungsverfahren von Wuhan Zhongshin Chemical Co., Ltd. (China) in Betracht gezogen, und die Verbindung ist in der Entwicklung (10% WP-Formulierung) zur Bekämpfung von saugenden Schadinsekten an Gemüse, Reis und Baumwolle.

8.2.2. Strukturell fixierte *cis*-Nitromethylene

1988 wurden erste Synthesen insektizider, *cis*-konfigurierter Nitromethylene wie BAY T9992, fixiert durch 1,2,3,6-Tetrahydropyrimidin (erhalten durch Mannich-Reaktion mit Formaldehyd und Aminen) oder 1*H*-Pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-Systeme (R = H, *t*Bu; Abbildung 17) von Nihon Tokushu

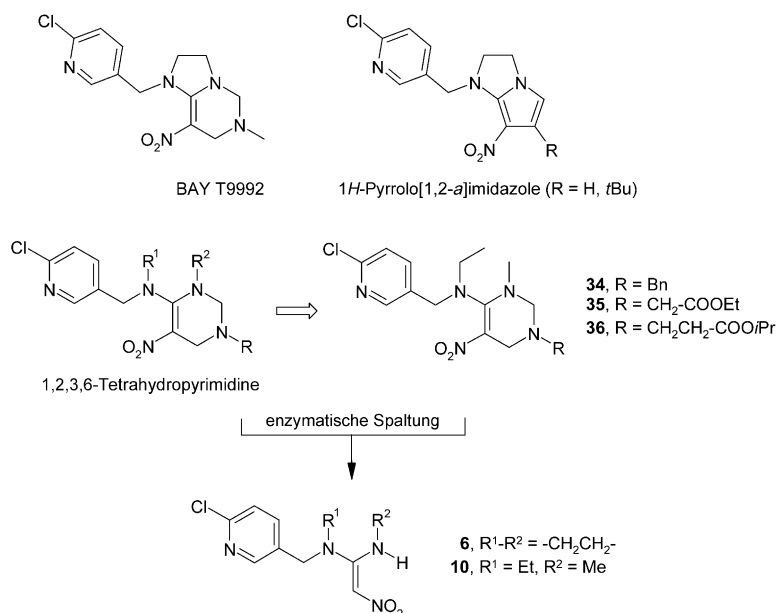


Abbildung 17. Erste *cis*-konfigurierte Nitromethylenstrukturen, die zu neuen 4-Amino-1,2,3,6-tetrahydropyrimidinen (34–36) und durch Spaltung zu Nitromethylenen 6 und 10 führten.

Noyaku Seizo KK (später Bayer CropScience KK, Japan) publiziert.^[78]

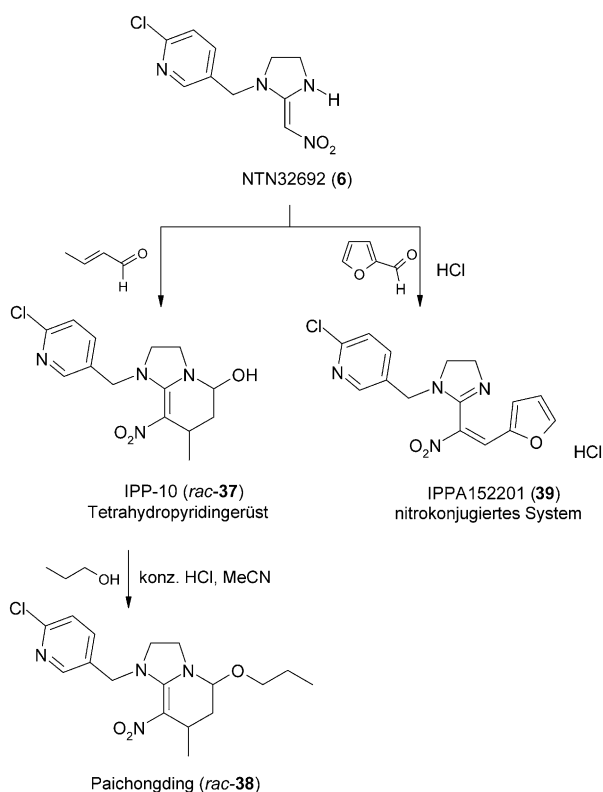
Die 4-Amino-1,2,3,6-tetrahydropyrimidingerüste können direkt oder nach saurer oder enzymatischer Spaltung reagieren, indem sie sich in ihre sehr insektiziden Nitromethylenvorstufen rückumwandeln, z. B. NTN32692 (6; R¹-R² = -CH₂CH₂-) und Nitenpyram (10; R¹ = Et, R² = Me; siehe Abschnitt 1.1).^[79] Bei verschiedenen pH-Werten (pH 4, 7 oder 9) kann Hydrolyse von Mannich-Addukten beobachtet werden, und die Daten sind in voller Übereinstimmung mit der insektiziden Wirkung dieser Verbindungen als Prodrugs.^[1]

Unlängst wurden ausgehend von den ausgewählten Kandidaten 34 und 36 (Abbildung 17) Ligand-Rezeptor-Komplexe durch molekulare Dockingstudien an der extrazellulären Domäne von nAChRs (Untereinheit von *Ls*-AChBP als strukturelles Surrogat des Insekten-nAChR) modelliert, um die bei In-vitro-Assays beobachtete SAR zu erklären.^[80a] Ungeachtet ihrer Prodrug-Eigenschaften scheint die insektizide Potenz von der Zahl von CH₂-Gruppen und der Größe der Esterfunktion beeinflusst zu werden.^[80b] Bisher wurde kein kommerzielles Insektizid aus diesem Konzept entwickelt.

Darüber hinaus werden die β -Nitroenaminstrukturen 6 und 10 intensiver als Ausgangsstoffe für Synthesen von neuartigen nAChR-Agonisten mit strukturell fixiertem *cis*-Nitromethylen-Pharmakophor verwendet.^[81] In diesem Zusammenhang wurde gezeigt, dass das α -Kohlenstoffatom der Nitromethylengruppe in 6 und 10 durch weitere elektrophile Agentien wie ungesättigte oder heterocyclische Aldehyde, Benzylbromid, Propiolsäureethylester, Diphenylnitrilimin und Diazoniumsalze angegriffen werden kann.^[82] Als erfolgreichste Rigidisierung erwies sich die Einführung eines Tetrahydropyridingerüsts und Bildung eines nitrokonjugierten Systems wie in IPP-10 (*rac*-37), Paichongding (*rac*-38) und IPAA152201 (39) in Schema 5.

Paichongding (*rac*-38) wurde aus 6 durch Cyclisierung mit Crotonaldehyd unter Bildung von *rac*-37 und anschließende Veretherung mit 1-Propanol gebildet. Die Zwischenstufe IPP-10 (*rac*-37) hat sowohl Kontakt- als auch systemische Wirkung und zeigt Pflanzensystemizität mit letalen und subletalen Auswirkungen auf die Haferblattlaus (*Rhopalosiphum padi* L.) auf Weizen.^[83] *rac*-38 (Gemisch aus vier Diastereomeren, zwei Enantiomerenpaare)^[84] wurde gemeinsam mit der Jiangsu Kwin Co., Ltd. entwickelt und hat eine einstweilige Pestizidzulassung (10% SC-Formulierung) für den chinesischen Markt erhalten.

IPAA152201 (39) entsteht durch eine durch konzentrierte Salzsäure katalysierte Kondensationsreaktion der Nitromethylengruppe in 6 mit Furfural (Schema 5). Auch wenn 39 eine gute Wirkung gegen Lepidopteren wie Asiatische Reiseule (*Pseudaletia separata* WALKER) und Reiswickler (*Cnaphalocrocis medinalis* GUENEE) zeigt, wurde die Entwicklung zum Insektizid für den Pflanzenschutz durch seine geringe Stabilität behindert (Photostabilität: $t_{1/2} = 4 \text{ h}$ in Wasser,



Schema 5. Synthese von IPP-10 (*rac*-37), Paichongding (*rac*-38) und IPA152201 (39).

d.h. niedriger als *rac*-38 und 7). Darüber hinaus wurde für beide Verbindungen eine 30-fache Aktivität gegen Stämme der braunen Spitzkopfszikade (*Nilaparvata lugens* STAL) beschrieben, die gegenüber 7 resistent sind. Sowohl Paichongding (*rac*-38) als auch IPA152201 (39) werden durch die Y151S-Mutation in N1α1 teilweise beeinflusst, jedoch wurde die Mutation noch in keiner im Feld gesammelten Population identifiziert.^[85] Für *rac*-38 konnte von seinem 2-Chlor-1,3-thiazol-5-ylmethyl-Bioisoster vor kurzem eine hohe insektizide Wirkung gegen Bohnenblattläuse (*A. craccivora*) nachgewiesen werden.^[86]

8.3. Biorationaler Ansatz

Neuartige chemische Grundgerüste, auch als privilegierte Strukturen bezeichnet,^[87] gewinnen zunehmend Einfluss bei der Suche nach neuen agrochemischen Motiven und helfen schließlich beim Auffinden von Wirkstoffen für den Einsatz im modernen Pflanzenschutz. Sie können ein nützlicher Ausgangspunkt für das Design von Verbindungen sein, die bislang wenig untersuchte chemische Struktureinheiten oder Bindungselemente mit vorteilhaften physikochemischen Eigenschaften aufweisen. In diesem Zusammenhang sind auf Insekten-nAChRs wirkende topologische Pharmakophormuster aus Naturstoffen von Interesse, z. B. *Stemona*-Alkaloide der Stemofolin-Gruppe^[88] wie Stemofolin und 16,17-Didehydro-(16*E*)-stemofolin aus Pflanzen der Familie Stemonaceae (Abbildung 18).

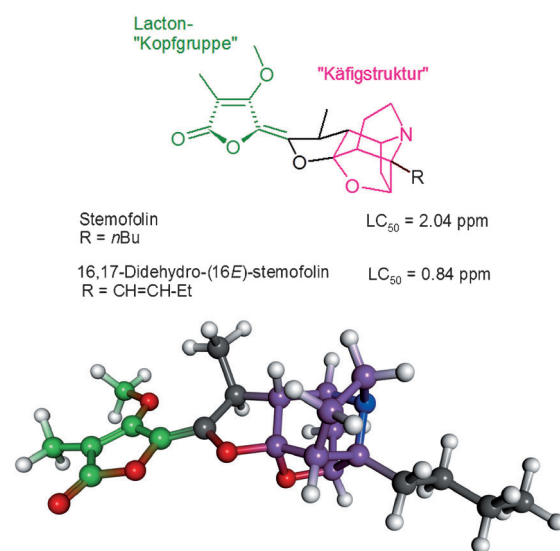


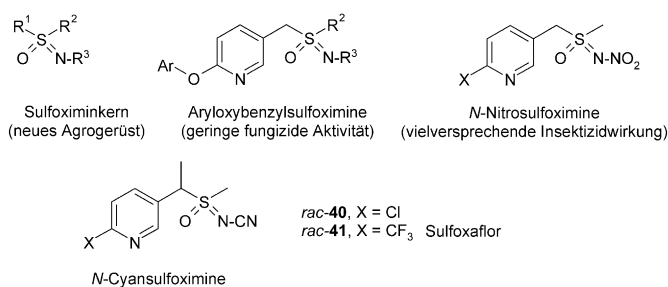
Abbildung 18. Zwei *Stemona*-Alkaloide der Stemofolingruppe und ihre insektizide Wirkung auf frisch geschlüpfte Larven des Baumwollblattwurms (*S. littoralis*).^[89] Unten: Geometrie von Stemofolin (R = *n*Bu), DFT-optimiert. Für die weitere Referenz wird die Lacton-„Kopfgruppe“ durch grünes Einfärben der jeweiligen Kohlenstoffatome markiert; violette Kohlenstoffatome markieren die „Käfigstruktur“ des Stemofolins.

Stemofolin (R = *n*Bu; aus den Blättern und dem Stamm von *Stemona japonica* isoliert) ist längst als potenter nAChR-Agonist bekannt (α -BgTx-Verdrängung: EC₅₀ = 1.7 nM)^[90] und zeigt schnellwirkende insektizide, schnell inaktivierende, fraßhemmende und abweisende Aktivitäten.^[91] Darüber hinaus zeigt es systemische (Xylemmobilität) und transaminare Wirksamkeit (log *P*_{ow} = 2.64 bei pH 7.5). 16,17-Didehydro-(16*E*)-stemofolin (R = HC=CH-Et; aus getrockneten Wurzeln von *Stemona collinsae*) wirkt sogar stärker als Stemofolin gegen Larven des Baumwollblattwurms (*Spodoptera littoralis*) und zeigt eine stärkere fraßhemmende Wirkung gegen Kohlmottenlarven (*Plutella xylostella*).^[92] Daher gilt das komplexe chemische Stemofolingerüst als privilegierte Struktur zur Identifizierung kleiner, insektizid wirksamer nAChR-Agonisten.

Der Wert der privilegierten Strukturen wird durch die Identifizierung des Sulfoximinkerns als neues Agrogerüst (siehe Abschnitt 8.3.1) deutlich. Die Vereinfachung der Stemofolinstruktur (siehe Abschnitte 8.3.2 und 8.3.3) führte zur Entdeckung zweier neuartiger, insektizider Klassen von nAChR-Agonisten, nämlich der Pyridinylcyanotropane und der Butenolide.

8.3.1. Sulfoximin-Insektizide

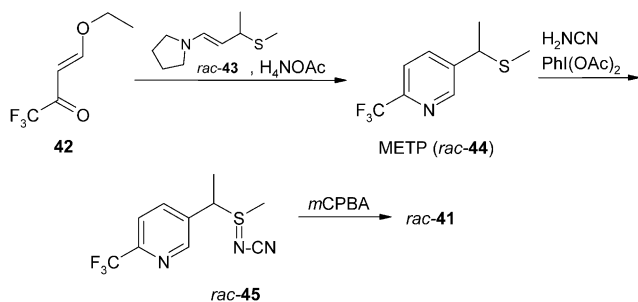
Obwohl Sulfoximine schon seit mehr als 65 Jahren literaturbekannt sind, wurde der Wert ihres kleinen hydrophilen Sulfoximinkerns (Schema 6) erst vor kurzem für den Einsatz in Agrochemikalien entdeckt.^[93] Laut den Forschern von Dow AgroSciences wurden verschiedene Sätze substituierter Sulfoximingerüste mit drei verschiedenen Resten R¹, R² und R³ anhand von Agrochemie-Tauglichkeitsparametern gemäß Lipinskis Fünferregel synthetisiert.^[94] Während die *S*-Aryl-



Schema 6. Sulfoximinkerngetriebenes Optimierungsverfahren.

oxybenzylsubstitution (R^1) zunächst Sulfoximine mit schwach fungizider Aktivität ergab, führte die weitere Untersuchung des bioaktiven Gerüsts in der Folge zu *N*-Nitrosulfoximin (z. B. R^1 = 6-Chlorpyridin-3-ylmethyl, R^2 = Me und R^3 = NO₂) als Leitstrukturen mit vielversprechender Insektizidwirkung. Der Ersatz der *N*-Nitro- durch eine *N*-Cyanogruppe (R^3 = CN) und die Einführung eines *mono*-Methyl-substituierten Linkers (CHMe) zwischen Pyridinring und Sulfoximino-Gruppe ergab *N*-Cyansulfoximine. Weitere Untersuchungen der Pyridinring-SARs ergaben, dass die insektizide Wirkung durch kleine, lipophile, elektronenziehende Substituenten an der 6-Position, wie 6-Trifluormethyl (X = CF₃), beträchtlich erhöht werden kann, was zur Entdeckung von Sulfoxaflor (*rac*-**41**) führte (Schema 6).

Ausgehend von (3*E*)-4-Ethoxy-1,1,1-trifluor-3-but-2-on (**42**) kann das racemische 5-[(1-Methylthio)ethyl]-2-(trifluormethyl)pyridin (METP, *rac*-**44**) durch Pyridinringbildung unter Verwendung von *rac*-**43** in Gegenwart von Ammoniumacetat synthetisiert werden (Schema 7). Oxidative Addi-



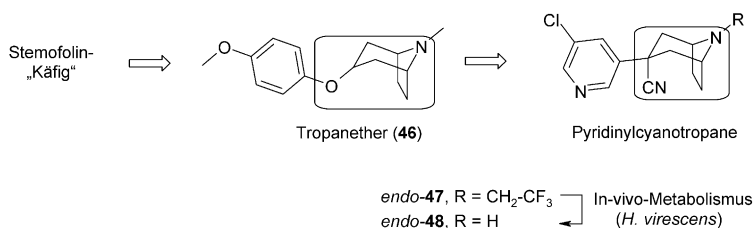
Schema 7. Synthese von Sulfoxaflor (*rac*-**41**). mCPBA = *meta*-Chlorperbenzoesäure.

tion von Cyanamid an *rac*-**44** ergibt das *N*-Cyansulfoximin *rac*-**45**, dessen weitere Oxidation zu Sulfoxaflor (*rac*-**41**) als Gemisch aus vier Diastereomeren (zwei Enantiomerenpaaren) führt. Gegenüber der 6-Chlorsubstitution bei *rac*-**40** (X = Cl) führt die 6-Trifluormethylgruppe bei *rac*-**41** (X = CF₃) zu stärkerer Aktivität gegen die Baumwollblattlaus (*Aphis gossypii* GLOVER) und die Grüne Pfirsichblattlaus (*M. persicae* SULZER), während ihre Aktivitäten gegen die Baumwollweißfliege (*B. tabaci* GENNADIUS) schwächer sind. *rac*-**41**

wurde zum ersten Mal in Südkorea für den Einsatz auf Äpfeln, Birnen und Cayennepfeffer registriert und vom IRAC als nAChR-Agonist der Gruppe 4 (Untergruppe 4C) zugeordnet.

8.3.2. Pyridinylcyanotropaninsektizide

Basierend auf dem tetracyclischen, starren Pyrrolo-[1,2a]azepinringsystem (Stemofolin-„Käfig“) wurde von Zeneca (später Syngenta AG) **46** entworfen (α -BgTx-Verdrängung: IC₅₀ = 310.0 nM); auf dieser Basis wurden die Pyridinylcyanotropaninsektizide entdeckt, z. B. **47** (IC₅₀ = 1.0 nM). Dieses weist hohe nAChR-Agonistenaktivität in vivo gegen saugende Schädlinge wie Blattläuse (Schema 8) auf.

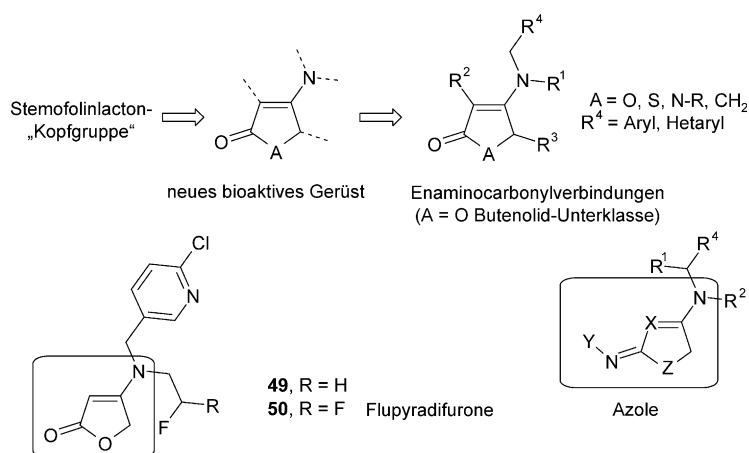


Schema 8. Durch den Stemofolin-Käfig getriebene Optimierungsverfahren.

Nach der Injektion in Larven des Tabakknospenwurms (*Heliothis virescens* HÜBNER) wurde eine schnelle Bioaktivierung des Prodrugs *endo*-**47** durch Spaltung seiner *N*-(2,2,2-Trifluorethyl)-Gruppe binnen zwei Stunden unter Bildung von *endo*-**48** (R = H) beobachtet.^[95] Die Pyridinylcyanotropane haben eine hochaffine Bindungsstelle mit α -BgTx aufgrund von pharmakologischen Ähnlichkeiten gemein, die sich aber von der hochaffinen Bindungsstelle für **7** unterscheidet. [³H]-*endo*-**48** erwies sich als spezifisches biochemisches Hilfsmittel zur Definition einer Subpopulation von nAChRs bei Insekten und zur Untersuchung des Bindungsverhaltens neuartiger nAChR-Agonisten. Allerdings wurde noch kein kommerzieller nAChR-Agonist auf der Grundlage der Stemofolin-„Käfig“-Vereinfachungsstrategie entwickelt.

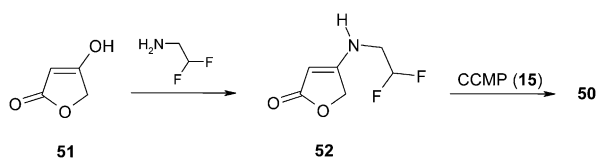
8.3.3. Butenolidinsektizide

Inspiziert von der Stemofolinlacton-„Kopfgruppe“ als topologischem Pharmakophormuster wurde ein neues bioaktives Gerüst gefunden, das schließlich zur Identifikation der insektizid wirksamen Verbindungsklasse der Enaminocarbonylverbindungen führte (Schema 9). Dieser Ansatz wurde stark durch Molecular-Modeling-Studien mit relevanten nAChR-Agonisten, d. h. Azolen mit neuen Pharmakophoren und hoher Affinität zum Insekten-nAChR, z. B. 4-Amino-2-(5*H*)-thiazolidincyanamidin (X = N, Y = CN, Z = S),^[96] sowie fünf- und sechsgliedrigen Heterocyclen mit (Thio-)Lacton-, Lactam- oder Cycloalken-1-Einheiten unterstützt.^[97] Durch schrittweise chemische Evolution der Enaminocarbonylverbindungen wurde die insektizid wirksame Butenolid-Unterklasse (A = O) identifiziert.



Schema 9. Durch die Stemofolin-Kopfgruppe getriebene Optimierungsverfahren.

Die weitere Erforschung des Hetarylmethylrests R⁴ (fünf- und sechsgliedrige Hetarylreste) führte schließlich zur Entdeckung von hochpotenten nAChR-Agonisten wie **49** (R = H) und Flupyradifurone (**50**; R = F).^[98] Ausgehend von 4-Hydroxy-2(5H)-furanon (β -Tetronsäure, **51**) kann 4-[(2,2-Difluorethyl)amino]-2(5H)-furanon (**52**) durch Umsetzung mit 2,2-Difluorethylamin hergestellt werden; nachfolgende N-Alkylierung mit CCMP (**15**) ergab **50** (Schema 10).



Schema 10. Synthese von Flupyradifurone (**50**).

Als Vertreter einer neuen Klasse von Butenolidinsektiziden wird Flupyradifurone (**50**; ISO Common Name im Juni 2011 vorläufig genehmigt) derzeit bei Bayer CropScience AG zur Bekämpfung eines breiten Spektrums von saugenden Insekten, insbesondere verschiedener Arten von Blattläusen, Zikaden, Psylliden, bestimmter Arten von Schildläusen, Thripsen und Weißen Fliegen entwickelt. Seine Markteinführung ist für 2015 geplant. Gegenüber *N*-Nitroguanidinen (**7**, **9**, **12**, **13**, **25**), *N*-Cyanamidinen (**8** und **11**) oder Nitroenaminen wie **10** (siehe Abschnitte 1.1 und 8.1) und Sulfoxaflor (**41**; siehe Abschnitt 8.3.1) enthält das Butenolidinsektizid Flupyradifurone (**50**) ein anderes Pharmakophorsystem als neues bioaktives Gerüst, was der Grund für seine spezifischen physikochemischen Eigenschaften, seine Systemizität, seinen Metabolismus in Pflanzen und Insekten und sein günstiges Sicherheitsprofil ist. Dank seiner schnellen Aufnahme, Translokation und Verteilung in Pflanzen (siehe Abschnitt 2.3) hat **50** vielfältige Anwendungen in einer Vielzahl von Nutzpflanzen gefunden und zeigt ausgezeichnete und schnelle Wirksamkeit gegen ein breites Spektrum von saugenden Schädlingen.

8.4. Homologiemodell-basiertes virtuelles Screening

In Abschnitt 4.3 wurde die Verwendung von Strukturinformationen über nAChR selbst oder ersatzweise Mollusken-AChBP-Surrogate für das Verständnis der Bindungsweisen bereits diskutiert. Homologiemodelle der Agonistenbindungsdomänen von Insekten, für die bislang keine Informationen aus der strukturellen Biologie verfügbar sind, können auch für Computer-Bindungssimulationen, rationales Design und virtuelles Screening chemischer Bibliotheken zur Identifikation neuer insektizider nAChR-Liganden verwendet werden.^[13c]

9. Zusammenfassung und Ausblick

Der weltweite enorme wirtschaftliche Erfolg von nAChR-Agonisten wie Neonicotinoidinsektiziden macht den nAChR immer noch zu einem der interessantesten Ziele für den modernen Pflanzenschutz und für die Exploration in der Insektizidforschung. Wegen des konkurrenzfähigen Sicherheitsprofils, der hohen Selektivität und der Vielseitigkeit der Anwendungsmöglichkeiten ist die Klasse der Neonicotinoide weltweit integraler Bestandteil zahlreicher Schädlings- und integrierter Insektenbekämpfungsstrategien.

In den vergangenen zwölf Jahren wurden diverse hochauflösende Kristallstrukturen homopentamerer AChBPs aus verschiedenen Spezies wie *L. stagnalis* und *A. californica* aufgeklärt, die homolog zur extrazellulären *N*-terminalen LBD der nAChRs sind. Sie können die theoretische Grundlage für die Konstruktion von Homologiemodellen für die LBD von Insekten-nAChRs bieten, als nützliche Basis für ein virtuelles Screening chemischer Bibliotheken zur Identifizierung neuartiger insektizider nAChR-Liganden. In diesem Zusammenhang sind die Identifizierung und die Charakterisierung von Insekten-nAChR-Subtypen ein wichtiges Forschungsgebiet, das eine neue Ära für Subtyp-selektive nAChR-Agonisten mit spezifischem biologischem Profil und maximaler Sicherheit eröffnen kann.

Für die Zukunft ist die Entdeckung und Entwicklung neuer nAChR-Agonisten unverzichtbar, insbesondere solcher mit resistenzbrechenden Eigenschaften. Des Weiteren kann erwartet werden, dass Mutationen in nAChR-Untereinheiten, im Bereich kritischer Aminosäuren, die Wirksamkeit für jeden neuen Agonisten mit einer Bindungsweise ähnlich der von etablierten Produkten reduzieren. Daher richtet sich gegenwärtig das Design von neuen insektiziden nAChR-Agonisten auf strukturelle Restriktionen der Liganden. Dies können beispielsweise einzigartige Pharmakophoränderungen oder Ersatz der Hetarylmethylseitenkette sein, wie bei den Sulfoximin- und Butenolidinsektiziden veranschaulicht.

Abkürzungen

3D-QSAR	dreidimensionale quantitative Struktur-Aktivitäts-Beziehung
Ac	<i>Aplysia californica</i>
ACh	Acetylcholin
AChBP	Acetylcholin-Bindeprotein
au	atomare Einheiten
CLR	Cysteinschleifenrezeptor
DFT	Dichtefunktionaltheorie
ESP	elektrostatisches Potential
IC ₅₀	Hemmkonzentration 50 %
IPM	integrierte Schadinsektenkontrolle
LBD	Ligandenbindungsdomäne
LC ₉₀	Konzentration in ppm, die 90 % der behandelten Population tötet
LGIK	ligandengesteuerter Ionenkanal
log <i>P</i> _{ow}	Logarithmus des Octanol(1)-Wasser-Verteilungskoeffizienten
Ls	<i>Lymnea stagnalis</i>
nAChR	nicotinischer Acetylcholin-Rezeptor
OD	Öldispersion
SC	Suspensionskonzentrat
SAR	Struktur-Wirkungs-Beziehung
<i>t</i> _{1/2}	photolytische Halbwertszeit (in Wasser)
TSKF	Transpirationsstromkonzentrationsfaktor
WG	wasserdispersierbares Granulat
WP	wasserdispersierbares Pulver
ZNS	Zentralnervensystem
α-BgTx	α-Bungarotoxin
λ _{max}	Wellenlänge der maximalen Absorption

Der Inhalt dieses Aufsatzes basiert auf den Erfindungen und der wissenschaftlichen Unterstützung vieler Kollegen bei der Bayer CropScience AG sowie Forschern aus der weltweiten Agrochemie. Wir danken Oliver Gutbrod und Svend Matthiesen für ihre Unterstützung bei der Modellierung von AChBP- und nAChR-Liganden-Wechselwirkungsmodi und wertvolle Diskussionen.

Eingegangen am 27. März 2013

- [1] R. Nauen, U. Ebbinghaus-Kintscher, A. Elbert, P. Jeschke, K. Tietjen in *Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance* (Hrsg.: I. Ishaaya), Springer, Berlin, **2001**, S. 77–106.
- [2] a) K. Konishi, *Agric. Biol. Chem.* **1970**, *34*, 935–940; b) R. Richter, D. Ottow, H. J. Mengs in *Chemistry of Plant Protection 2: Degradation of Pesticides, Desiccation and Defoliation, ACh-Receptors as Targets* (Hrsg.: G. Haug, H. Hoffmann), Springer, Berlin, **1989**, S. 157–195; c) S. J. Lee, T. Tomizawa, J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2646–2652.
- [3] D. B. Sattelle, I. D. Harrow, J. A. David, M. Pelhate, J. J. Callec, J. I. Gepner, L. M. Hall, *J. Exp. Biol.* **1985**, *118*, 37–52.
- [4] G. D. Crouse, J. E. Dripps, T. C. Sparks, G. B. Watson, C. Waldron in *Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3* (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1238–1257.
- [5] Agranowa AG, *Chem. New Compound Rev.* **2012**, *30*, 127–131.
- [6] N. Mencke, P. Jeschke, *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 701–715.
- [7] H. Feuer, J. P. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 1856–1857.
- [8] a) S. B. Soloway, A. C. Henry, W. D. Kollmeyer, W. M. Padgett, J. E. Powell, S. A. Roman, C. H. Tieman, R. A. Corey, C. A. Horne in *Pesticide and Venom Neurotoxicology* (Hrsg.: D. L. Shankland, R. M. Hollingworth, T. Smith, Jr., Plenum, New York, NY, **1978**, S. 153–158; b) W. D. Kollmeyer, R. F. Flattum, R. F. Foster, J. E. Powell, M. E. Schroeder, S. B. Soloway in *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor* (Hrsg.: I. Yamamoto, J. E. Casida), Springer, Berlin, **1999**, S. 71–89.
- [9] S. Kagabu, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2887–2896.
- [10] a) M. E. Schroeder, R. F. Flattum, *Pestic. Biochem. Physiol.* **1984**, *22*, 148–160; b) D. B. Sattelle, S. D. Buckingham, K. A. Wafford, S. M. Sherby, N. M. Bakry, A. T. Eldefrawi, M. E. Eldefrawi, T. E. May, *Proc. R. Soc. London Ser. B* **1989**, *237*, 501–514 [*Chem. Abstr.* **111**:210561].
- [11] S. Sone, Y. Yamada, S. Tsuboi, *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* **1995**, *39*, 171–173.
- [12] S. Kagabu, *Rev. Toxicol.* **1997**, *1*, 75–129.
- [13] a) R. Nauen, P. Jeschke, L. Copping, *Pest Manage. Sci.* **2008**, *64*, 1081; b) P. Jeschke, R. Nauen, *Pest Manage. Sci.* **2008**, *64*, 1084–1098; c) P. Jeschke, R. Nauen, M. Schindler, A. Elbert, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2897–2908.
- [14] a) P. Jeschke in *Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3* (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1169–1189; b) P. Jeschke, K. Moriya in *Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3* (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1189–1203; c) P. Maienfisch in *Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3* (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1203–1225; d) P. Maienfisch, F. Brandl, W. Kobel, A. Rindlisbacher, R. Senn in *Neonicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor* (Hrsg.: I. Yamamoto, J. E. Casida), Springer, Tokyo, **1999**, S. 177–209.
- [15] M. Tomizawa, I. Yamamoto, *J. Pestic. Sci.* **1993**, *18*, 91–98.
- [16] a) R. Nauen, U. Ebbinghaus-Kintscher, V. L. Salgado, M. Kaussmann, *Pestic. Biochem. Physiol.* **2003**, *76*, 55–69; b) P. Jeschke, R. Nauen in *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals VII*, ACS Symposium Series, Vol. 948 (Hrsg.: J. W. Lyga, G. Theodoridis), American Chemical Society, Washington, DC, **2007**, S. 51–65; c) Y. Benzidane, S. Touinsi, E. Motte, A. Jadas-Hecart, P.-Y. Communal, L. Leduc, S. H. Thany, *Pest Manage. Sci.* **2010**, *66*, 1351–1359; d) J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2762–2769; e) H. Kayser, L. Connie, A. Decock, M. Baur, J. Haettenschwiler, P. Maienfisch, *Pest Manage. Sci.* **2004**, *60*, 945–958.
- [17] a) S. Kagabu in *Chemistry of Crop Protection: Progress and Prospects in Science and Regulation* (Hrsg.: G. Voss, G. Ramos), Wiley-VCH, Weinheim, **2013**, S. 193–212; b) P. Jeschke, M. Schindler, M. E. Beck, *Proceedings, Brighton Crop Protection Conference—Pest and Diseases*, BCPC: Farnham, Surrey, Großbritannien, **2002**, S. 137–144.
- [18] a) P. Jeschke, R. Nauen in *Comprehensive Molecular Insect Science, Vol. 5* (Hrsg.: L. Gilbert, K. Latrou, S. Gill), Elsevier, Oxford, **2005**, S. 53–105; b) P. Jeschke, R. Nauen in *Insect Control—Biological and Synthetic Agents* (Hrsg.: L. I. Gilbert, S. S. Gill), Elsevier, Academic Press, **2010**, S. 114–119.
- [19] a) S. Kagabu, S. Medej, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1995**, *59*, 980–985; b) S. Kagabu, T. Akagi, *J. Pestic. Sci.* **1997**, *22*, 84–89.
- [20] M. Akamatsu, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2909–2917.
- [21] a) R. A. Cloyd, J. A. Bethke, *Pest Manage. Sci.* **2011**, *67*, 3–9; b) J. Inoue, K. Chamberlaine, R. H. Bromilow, *Pestic. Sci.* **1998**, *54*, 8–21; c) T. van Leeuwen, W. Dermauw, M. van de Viere, L. Tirry, *Exp. Appl. Acarol.* **2005**, *37*, 93–105.
- [22] S. Kagabu, *J. Pestic. Sci.* **1996**, *21*, 231–239.
- [23] G. Briggs, R. H. Bromilow, A. A. Evans, *Pestic. Sci.* **1982**, *13*, 495–504.

- [24] A. Elbert, R. Nauen in *Insect Pest Management, Field and Protection Crops* (Hrsg.: A. R. Horowitz, I. Ishaaya), Springer, Berlin, **2004**, S. 29–57.
- [25] H. W. Schmidt, J. Hartmann, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **1999**, 52, 337–349.
- [26] R. Nauen, P. Jeschke in *Green Trends in Insect Control* (Hrsg.: O. Lopez, J. G. Fernandez-Bolanos), Royal Society of Chemistry, Cambridge, Großbritannien, **2011**, S. 132–162.
- [27] M. Tomizawa, J. E. Casida, *Annu. Rev. Entomol.* **2003**, 48, 339–364.
- [28] M. Tomizawa, J. E. Casida, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2005**, 45, 247–268.
- [29] a) C. Bass, A. M. Puinean, M. Andrews, P. Cutler, M. Daniels, J. Elias, V. L. Paul, A. J. Crosssthaite, I. Denholm, L. M. Field, S. P. Foster, R. Lind, M. S. Williamson, R. Slater, *BMC Neurosci.* **2011**, 12, 51–61; b) K. Matsuda, S. Kanaoka, M. Akamatsu, D. B. Sattelle, *Mol. Pharmacol.* **2009**, 76, 1–10; c) L. Erdmanis, A. O. O'Reilly, M. S. Williamson, L. M. Field, A. Turberg, B. A. Wallace, *Biochemistry* **2012**, 51, 4627–4629.
- [30] M. Y. Liu, J. E. Casida, *Pestic. Biochem. Physiol.* **1993**, 46, 40–46.
- [31] a) A. Karlin, *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, 3, 102–114; b) N. S. Millar, C. Gotti, *Neuropharmacology* **2009**, 56, 237–246; c) D. B. Sattelle, A. K. Jones, B. M. Sattelle, K. Matsuda, R. Reenan, P. C. Biggin, *BioEssays* **2005**, 27, 366–376.
- [32] S. M. Sine, A. G. Engel, *Nature* **2006**, 440, 448–455.
- [33] S. H. Thany, G. Lenears, V. Raymond-Delpech, D. B. Sattelle, B. Lapid, *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, 28, 14–22; N. S. Millar, I. Denholm, *Invert. Neurosci.* **2007**, 7, 53–66.
- [34] E. D. Gundelfinger, R. Schulze in *Handbook of Experimental Pharmacology: Neuronal Nicotinic Receptors*, Vol. 44 (Hrsg.: F. Clementi, D. Fornasari, C. Gotti), Springer, Berlin, **2000**, S. 497–521.
- [35] a) N. Unwin, *J. Mol. Biol.* **2005**, 346, 967–989; b) S. B. Hansen, G. Sulzenbacher, T. Huxford, P. Marchot, P. Tayler, Y. Bourne, *EMBO J.* **2005**, 24, 3635–3646.
- [36] A. K. Jones, L. A. Brown, D. B. Sattelle, *Invert. Neurosci.* **2007**, 7, 67–73.
- [37] a) H. Breer, D. B. Sattelle, *J. Insect Physiol.* **1987**, 33, 771–790; b) A. K. Jones, V. Raymond-Delpech, S. H. Thany, M. Gauthier, D. B. Sattelle, *Genome Res.* **2006**, 16, 1422–1430.
- [38] N. Unwin, A. Miyazawa, J. Li, Y. Fujiyoshi, *J. Mol. Biol.* **2002**, 319, 1165–1176.
- [39] K. Brejc, W. J. van Dijk, R. V. Klaasen, M. Schurmans, J. van der Oost, A. B. Smit, T. K. Sixma, *Nature* **2001**, 411, 269–276.
- [40] a) S. B. Hansen, T. T. Talley, Z. Radic, P. Taylor, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 24197–24202; b) P. H. Celie, R. V. Klaasen, S. E. van Rossum-Fikkert, R. van Elk, P. van Nierop, A. B. Smit, T. K. Sixma, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 26457–26466.
- [41] a) M. Tomizawa, D. Maltby, T. T. Talley, K. A. Durkin, K. F. Medzihradszky, A. L. Burlingame, P. Taylor, J. E. Casida, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105, 1728–1732; b) M. Tomizawa, J. E. Casida, *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 260–269.
- [42] a) M. Cascio, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 19383–19386; b) P. H. N. Celie, S. E. van Rossum-Fikkert, W. J. van Dijk, K. Brejc, A. B. Smit, T. K. Sixma, *Neuron* **2004**, 41, 907–914.
- [43] J. D. Schmitt, *Curr. Med. Chem.* **2000**, 7, 749–800.
- [44] a) W. H. Beers, E. Reich, *Nature* **1970**, 228, 917–922; b) R. A. Glennon, M. Dukar, L. Liao, *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, 4, 631–644; c) P. Jeschke in *Modern Crop Protection Compounds*, Vol. 3 (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1127–1165.
- [45] a) T. T. Talley, M. Harel, R. E. Hibbs, Z. Radic, M. Tomizawa, J. E. Casida, P. Taylor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105, 7606–7611; b) M. Ihara, T. Okajima, A. Yamashita, T. Oda, K. Hirata, H. Nishiwaki, T. Morimoto, M. Akamatsu, Y. Ashikawa, S. Kuroda, R. Mega, S. Kuramitsu, D. B. Sattelle, K. Matsuda, *Invert. Neurosci.* **2008**, 8, 71–81.
- [46] M. Tomizawa, N. Zhang, K. A. Durkin, M. M. Olmstead, J. E. Casida, *Biochemistry* **2003**, 42, 7819–7827.
- [47] C. Ulens, A. Akdemir, A. Jongejan, R. van Elk, S. Bertrand, A. Perrakis, R. Leurs, A. B. Smit, T. K. Sixma, D. Bertrand, I. J. P. de Esch, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2372–2383.
- [48] Orchestrar in SYBYLx2.0, Certara, L.P., 9666 Olive Blvd, Suite 425, St. Louis MO 63132, USA.
- [49] Y. Wang, J. Cheng, X. Qian, Zh. Li, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 2624–2630.
- [50] A. Elbert, M. Haas, B. Springer, W. Thielert, R. Nauen, *Pest Manage. Sci.* **2008**, 64, 1099–1105.
- [51] M. R. V. Oliveira, T. J. Henneberry, P. Anderson, *Crop Prot.* **2001**, 20, 709–723.
- [52] H. J. Knaust, H. M. Poehling, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **1992**, 45, 381–408.
- [53] A. M. Dewar, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **1992**, 45, 423–442.
- [54] D. Hernandez, V. Mansanet, J. M. Puiggrós Jové, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **1999**, 52, 364–375.
- [55] R. Pontzen, A. W. P. Vermeer in *Modern Methods in Crop Protection Research* (Hrsg.: P. Jeschke, W. Krämer, U. Schirmer, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 219–248.
- [56] R. Vermeer, P. Baur, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Ger. Ed.)* **2007**, 60, 7–26.
- [57] Food and Agriculture Organization of the United Nations, CropLife International codes for technical and formulated pesticides. Manual on development and use of FAO and WHO specifications for pesticides, 1. Aufl., Appendix E, **2002**, S. 150 (siehe <http://www.fao.org/docrep/007/y4353e/y4353e0i.htm>).
- [58] W. Thielert, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer (Engl. Ed.)* **2006**, 59, 73–86.
- [59] W. R. Macedo, P. R. de Camargo e Castro, *Pestic. Biochem. Physiol.* **2011**, 100, 299–304.
- [60] E. Gonias, D. M. Oosterhuis, R. S. Brown, *Proc. Beltwide Cotton Conf.* **2004**, 2225–2229 [*Chem. Abstr.* 142:50740].
- [61] R. S. Brown, D. M. Oosterhuis, E. Gonias, *Proc. Beltwide Cotton Conf.* **2004**, 2231–2237 [*Chem. Abstr.* 142:50741].
- [62] L. Zelinski, W. Thielert, *Proc. Beltwide Cotton Conf.* **2008**, 1–6 [*Chem. Abstr.* 149:325598].
- [63] K. A. Ford, J. E. Casida, D. Chandran, A. G. Gulevich, R. A. Okrent, K. A. Durkin, R. Sarpong, E. M. Bunnelle, M. C. Wildermuth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 17527–17532.
- [64] A. Okazawa, M. Akamatsu, H. Nishiwaki, Y. Nakagawa, H. Miyagawa, K. Nishimura, T. Ueno, *Pest Manage. Sci.* **2000**, 56, 509–515.
- [65] M. E. Beck, *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, 45, 273–282.
- [66] R. G. Parr, W. Yang, *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*, Clarendon, New York, **1989**.
- [67] R. G. Parr, W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 4049–4050.
- [68] M. E. Beck, M. Schindler, *Chem. Phys.* **2009**, 356, 121–130.
- [69] R. Nauen, I. Denholm, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **2005**, 58, 200–215.
- [70] P. Jeschke in *Bioactive Heterocyclic Compound Classes, Agrochemicals* (Hrsg.: C. Lamberth, J. Dinges), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 209–223.
- [71] a) K. Shiokawa, S. Tsuboi, S. Kagabu, K. Moriya (Nihon Tokushu Noyaku Seizo K.K., Japan), Eur. Pat. Appl. EP 192060A1, **1986** [*Chem. Abstr.* 106:28848]; b) S. Kagabu, R. Ishihara, Y. Hieda, K. Nishimura, Y. Naruse, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 812–818.
- [72] a) K. Ishimitsu, J. Suzuki, H. Ohishi, T. Yamada, R. Hatano, N. Takakusa, J. Mitsui (Nippon Soda Co., Ltd., Japan), PCT Int. Appl. WO 9104965A1, **1991** [*Chem. Abstr.* 115:92085]; b) W. Xu, M. Wei, L. Miao, W. Liu, Z. Wu, G. Yu (Jiangsu Tianrong Group

- Co., Ltd., China), CN 101016277A, **2007** [*Chem. Abstr.* 147:344075].
- [73] W. Su, Y. Zhou, Y. Ma, L. Wang, Z. Zhang, C. Rui, H. Duan, Z. Qin, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 5028–5034.
- [74] S. F. McCann, D. Cordova, J. T. Andaloro, G. P. Lahm in *Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3* (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1253–1273.
- [75] a) M. Tomizawa, S. Kagabu, J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2918–2922; b) M. Tomizawa, S. Kagabu, I. Ohno, K. A. Durkin, J. E. Casida, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4213–4218; c) I. Ohno, M. Tomizawa, A. Aoshima, S. Kumazawa, S. Kagabu, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 4999–5003; d) M. Tomizawa, K. A. Durkin, I. Ohno, K. Nagura, M. Manabe, S. Kumazawa, S. Kagabu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3583–3586.
- [76] a) O. Ohno, M. Tomizawa, K. A. Durkin, J. E. Casida, S. Kagabu, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 2436–2440; b) S. Kagabu, E. Aoki, I. Ohno, *J. Pestic. Sci.* **2007**, *32*, 128–130.
- [77] X. Ju, L. Lu, L. Li, S. Li (Wuhan Institute of Technology, Peop. Rep. China; Wuhan Zhongxin Chemical Co., Ltd.), CN 2008/10236885, **2008** [*Chem. Abstr.* 151:313548].
- [78] K. Shiokawa, S. Tsuboi, S. Sasaki, K. Moriya, Y. Hattori, K. Shibuya, Eur. Pat. Appl. EP 296453A2, **1988**, Nihon Tokushu Noyaku Seizo K. K., Japan [*Chem. Abstr.* 111:7424].
- [79] J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2923–2931.
- [80] a) C. Sun, J. Jin, J. Zhu, H. Wang, D. Yang, J. Xing, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3301–3305; b) C. Sun, X. Xu, Y. Xu, D. Yan, T. Fang, T. Liu, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 4828–4835.
- [81] a) X. S. Shao, Z. Ye, H. Bao, Z. Liu, X. Xu, Z. Li, X. Qian, *Chimia* **2011**, *65*, 957–960; b) X. Shao, Z. Li, X. Qian, X. Xu, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 951–957; c) C. Sun, D. Yang, J. Xing, H. Wang, J. Jin, J. Zhu, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 3415–3421; d) X. Shao, P. W. Lee, Z. Lui, X. Xu, Z. Li, X. Qian, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 2943–2949.
- [82] Z. Ye, S. Xia, X. Shao, J. Cheng, X. Xu, Z. Xu, Z. Li, X. Qian, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 10615–10623.
- [83] L. Cui, L. Sun, X. Shao, Y. Cao, D. Yang, Z. Li, H. Yuan, *Pest Manage. Sci.* **2010**, *66*, 779–785.
- [84] a) C. Li, X.-Y. Yu, J.-Y. Li, Q.-F. Ye, Z. Li, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2011**, *54*, 775–779; b) C. Li, X.-Y. Yu, X.-Q. Liu, W. Wang, Q.-F. Ye, Z. Li, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2012**, *55*, 339–345.
- [85] X. Shao, H. Lu, Y. Lui, H. Bao, X. Xu, Z. Liu, Z. Li, *Insect Biochem. Mol. Biol.* **2011**, *41*, 440–445.
- [86] X. Shao, X. Huang, Q. Shi, Z. Li, L. Tao, G. Song, *J. Heterocycl. Chem.* **2012**, *49*, 1136–1142.
- [87] a) A. B. Evans, K. E. Rittle, M. G. Bock, R. M. DiPardo, R. M. Freidinger, W. L. Witter, G. F. Lundell, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. S. L. Chang, V. J. Lotti, D. J. Cerino, T. B. Chen, P. J. Kling, K. A. Kunkel, J. P. Springer, J. Hirshfield, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2235–2246; b) H. Kubinyi, in *Analogue-based Drug Discovery* (Hrsg.: J. Fischer, C. R. Ganellin), Wiley-VCH, Weinheim, **2006**, S. 53–68; c) M. E. Welsch, S. A. Snyder, B. R. Stockwell, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 347–361.
- [88] R. A. Pilli, G. B. Rosso, M. da Conceicao, F. de Oliveira, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1908–1937.
- [89] B. Brem, C. Seger, T. Pacher, O. Hofer, S. Vajrodaya, H. Greger, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6383–6388.
- [90] a) I. Ujvary in *Neonicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor* (Hrsg.: I. Yamamoto I, J. E. Casida), Springer, Berlin, **1999**, S. 29–69; b) S. Tamura, K. Sakata, A. Sakurai (Institute of Physical and Chemical Research, Japan), JP-Pat. Application 53127825A, **1978** [*Chem. Abstr.* 90:82176].
- [91] a) E. Kaltenegger, B. Brem, K. Mereiter, H. Kalchhauser, H. Kähling, O. Hofer, S. Vajrodaya, H. Greger, *Phytochemistry* **2003**, *77*, 803–816; b) P. Mungkornasawakul, S. G. Pyne, A. Jatisatienr, D. Supyen, C. Jatisatienr, W. Lie, A. T. Ung, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 675–677.
- [92] a) S. Jiwajinda, N. Harai, K. Watanabe, V. Santisopasri, N. Chuengsamarnyart, K. Koshimizu, H. Ogashi, *Phytochemistry* **2001**, *56*, 693–695; b) E. Kaltenegger, B. Brem, K. Mereiter, H. Kalchhauser, H. Kalig, O. Hofer, S. Vajrodaya, H. Greger, *Phytochemistry* **2001**, *63*, 803–816.
- [93] a) Y. Zhu, M. R. Loso, G. B. Watson, T. C. Sparks, R. B. Rogers, J. X. Huang, B. C. Gerwick, J. M. Babcock, D. Kelley, V. B. Hegde, B. M. Nugent, J. M. Renga, I. Denholm, K. Gorman, G. J. DeBoer, J. Hasler, T. Maede, J. D. Thomas, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2950–2957; b) T. C. Sparks, M. R. Loso, G. B. Watson, J. M. Babcock, V. J. Kramer, Y. Zhu, B. M. Nugent, J. D. Thomas in *Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3* (Hrsg.: W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel), Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, S. 1226–1237.
- [94] C. M. Tice, *Pest Manage. Sci.* **2001**, *57*, 3–16.
- [95] R. J. Lind, D. T. Greenhow, J. Blythe, J. Goodchild, E. Hirst, S. J. Dunbar, F. G. P. Earley, *Proc. Brighton Crop Protection Conf: Pest and Diseases* **2002**, *1*, 145–152.
- [96] P. Jeschke, M. Beck, W. Krämer, D. Wollweber, C. Erdelen, A. Turberg, O. Hansen, H.-D. Martin, P. Sauer (Bayer A.-G.), PCT Appl. WO 02/085870A1, **2002** [*Chem. Abstr.* 137:310921].
- [97] a) H. Oishi, T. Iihama, K. Ishimitsu, T. Yamada (Nippon Soda Co.), PCT Appl. WO 9200964A1, **1992** [*Chem. Abstr.* 117:7806]; b) U. Goergens, P. Jeschke, P. Loesel, O. Malsam, R. Nauen, K. G. Tietjen, R. Velten, L. Pitta, Ch. Arnold, W. Hempel, E. Sanwald (Bayer A.-G.), PCT Appl. WO 2006/037475A1, **2006** [*Chem. Abstr.* 144:326303].
- [98] P. Jeschke, R. Velten, T. Schenke, O. Schallner, M. Beck, R. Pontzen, O. Malsam, U. Reckmann, R. Nauen, U. Goerges, L. Pitta, T. Mueller, C. Arnold, E. Sanwald (Bayer A.-G.), US 8,106,211 B2, **2012** [*Chem. Abstr.* 147:427231].
- [99] O. Gutbrod, S. Matthiesen, M. E. Beck, unveröffentlichte Ergebnisse.