

Über Aminosäure-phenylazo-phenyl-Derivate. V

**Die phytotoxischen Eigenschaften von  
L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid,  
ein Beitrag zum Studium der Wirkungsweise von  
Herbiziden mit Amid-Struktur<sup>1)</sup>**

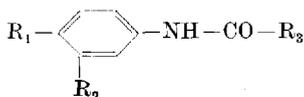
VON A. BARTH UND P. SCHWENK

Mit 7 Abbildungen

**Inhaltsübersicht**

L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid zeigt gegenüber Senf, Luzerne, Weizen, Mais und Ackerbohne wurzelherbizide Wirksamkeit. Das Amid wird durch die Pflanzenwurzeln aufgenommen und im Zentralzylinder teilweise abgebaut, wobei als Spaltprodukt p-Aminoazobenzol nachgewiesen werden kann. Die Versuche deuten darauf hin, daß der Träger der phytotoxischen Wirkung die Carbonamidgruppe ist.

Eine große Anzahl bisher bekannter hochwirksamer Herbizide ist chemisch dadurch charakterisiert, daß in ihrem Molekül eine Amidgruppe enthalten ist<sup>2)</sup>:



Zu nennen sind die Carbamate wie z. B. IPC ( $\text{R}_1 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ) und CIPC [ $\text{R}_1 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ]; die Amide wie z. B. Solan ( $\text{R}_1 = -\text{CH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}-\text{C}_3\text{H}_7$ );

Karsil ( $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}-\text{C}_3\text{H}_7$ ); Dicryl ( $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ) und FW 734 ( $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{C}_2\text{H}_5$ ) sowie die

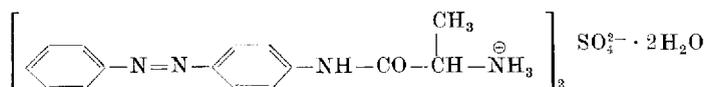
Karsil ( $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}-\text{C}_3\text{H}_7$ ); Dicryl ( $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ) und FW 734 ( $\text{R}_1 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_2 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_3 = -\text{C}_2\text{H}_5$ ) sowie die

<sup>1)</sup> IV. Mitteilung: A. BARTH, Liebigs Ann. Chem., **686**, 221 (1965).

<sup>2)</sup> Vgl. H. KURTH, „Chemische Unkrautbekämpfung“, VEB Gustav-Fischer-Verlag, Jena 1963.

Harnstoff-Abkömmlinge wie z. B. Monuron [ $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = -\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ], Diuron [ $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = \text{Cl}$ ,  $R_3 = -\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ] und Fenuron [ $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = -\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ].

Auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit der genannten Verbindungen ist es möglich, daß die Amid-(Anilid-)Gruppierung ein herbizides Wirkungszentrum darstellt. In vorliegender Arbeit soll daher untersucht werden, inwieweit Phenylazo-phenyl-amide von Aminosäuren herbizide Eigenschaften besitzen. Als Testsubstanz wurde L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat herangezogen, das in hoher Reinheit zu gewinnen, infolge seiner Färbigkeit in pflanzlichem Material leicht nachweisbar und in Wasser löslich ist. Die Substanz besitzt folgende Struktur:



Sie entspricht somit der oben angegebenen allgemeinen Formel

( $R_1 = -\text{N}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = -\text{CH}(\overset{\ominus}{\text{N}}\text{H}_3)$ ). Zu ihrer Darstellung

wird Cbo-L-Alanin<sup>3)</sup> mit p-Aminoazobenzol in absol. Tetrahydrofuran nach der Anhydrid-Methode<sup>4) 5)</sup> mit Chlorameisensäure-äthylester umgesetzt. Das entstehende Cbo-L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid<sup>6)</sup> wird in bekannter Weise mit Hilfe von Bromwasserstoff-Eisessig<sup>7-9)</sup> quantitativ in das wasserlösliche rote L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-hydrobromid übergeführt. Beim Versetzen letzterer Verbindung mit einer konzentrierten wäßrigen Natriumsulfat-Lösung kristallisiert sofort das L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat in Form feiner gelber Nadelchen aus.

### I. Nachweis der herbiziden Wirksamkeit des L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamids

Vorversuche zeigten, daß das Wurzelwachstum keimender Samen von Senf (*Sinapis alba*), Luzerne (*Medicago varia*), Weizen (*Triticum aestivum*) Mais (*Zea mays*) und Ackerbohne (*Vicia faba*) durch wäßrige Lösungen von

<sup>3)</sup> Cbo- = Carbobenzoxyrest.

<sup>4)</sup> TH. WIELAND u. B. HEINKE, Liebigs Ann. Chem. **615**, 184 (1958).

<sup>5)</sup> TH. WIELAND, Angew. Chem. **66**, 597 (1954).

<sup>6)</sup> Vgl. M. KAZMIERZAK u. G. KUPRYSZEWSKI, Roczniki Chem. **37**, 659 (1963).

<sup>7)</sup> D. BEN-ISHAÏ u. A. BERGER, J. org. Chemistry **17**, 1564 (1952).

<sup>8)</sup> R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta **37**, 647 (1954).

<sup>9)</sup> R. A. BOISSONNAS u. G. PREITNER, Helv. chim. Acta **36**, 875 (1953).

L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamidsulfat in Abhängigkeit von der Amid-Konzentration teilweise oder vollständig gehemmt wird. Die Testungen wurden an Senf-Körnern vorgenommen, da diese schnell und relativ gleichmäßig keimen sowie sehr empfindlich reagieren. In Petrischalen wurden dazu je 40 Senf-Körner auf Filtrierpapier gleichmäßig verteilt und mit 5 cm<sup>3</sup> Substanzlösung befeuchtet<sup>10</sup>).

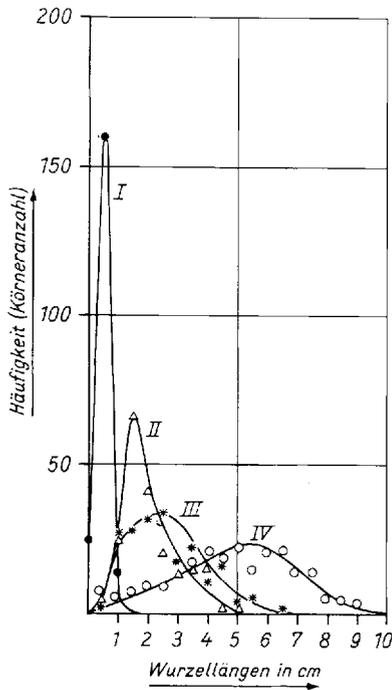


Abb. 1. Wurzellängen-Häufigkeits-Diagramm von Senf, nach 3tägigem Keimen unter Verwendung wäßriger L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat-Lösungen der Konzentrationen: I = 1000 ppm, II = 400 ppm, III = 300 ppm, IV = Wasser (Kontrollversuch)

d. h. ein Absterben der Zellen der Wurzelspitze und Streckungszone. Bei Anwendung der L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat Lösung in einer Konzentration von 300 ppm sind neben Gelb- bzw. Braunfärbungen noch deutliche Wachstumshemmungen an den Keimwurzeln des Senfs festzustellen.

Zur Anwendung gelangten folgende L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat Konzentrationen in Wasser: 1000 ppm (0,0015 molar), 400 ppm (0,00060 molar), 300 ppm (0,00045 molar). Der in den Abb. 1–3 dargestellte Keimungsverlauf stützt sich auf je 200 Werte der nach 3tägigem Stehen bei 27,5° (Brutschrank) ermittelten Wurzellängen; eine Notwendigkeit, um die natürliche Variationsbreite zu erfassen und aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Zu jeder Meßreihe wurden entsprechende Kontrollversuche in reinem Lösungsmittel durchgeführt.

Es zeigt sich, daß L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat in Konzentrationen von 1000 ppm das Keimwurzelwachstum völlig verhindert, bei 400 ppm sehr stark beeinträchtigt. Die Keimung setzt dabei in beiden Fällen innerhalb von 12 Stunden normal ein. Bald jedoch ist eine Gelbfärbung der Wurzelspitzen zu beobachten, hervorgerufen durch aufgenommenen Amid-Farbstoff. Mit zunehmender Konzentrierung der Verbindung in der Wurzelspitze tritt eine Bräunung letzterer ein,

<sup>10</sup> K. VODERBERG, Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzdienst **15**, 68 (1961); vgl. V. KOHOUT, Šorník Vysoké školy Zemědělské v Praze **1963**, 165

Um nähere Aussagen über das Wirkungszentrum in dem L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid treffen zu können, ist es nötig, die Einzelstrukturen auf ihre phytotoxischen Eigenschaften hin zu untersuchen. Es wurde zu-

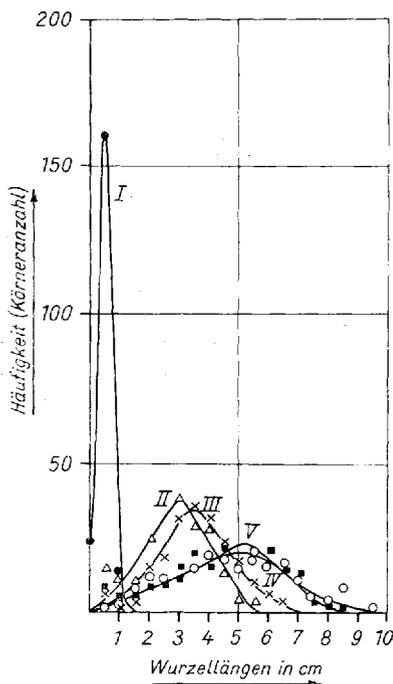


Abb. 2. Wurzellängen-Häufigkeits-Diagramm von Senf, nach 3tägiger Keimung bei 27,5°C im Brutschrank.

I = L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat in Wasser (Konz.: 1000 ppm), II = p-Aminoazobenzolhydrobromid in 0,1% Tensid 19 (Konz.: entsprechend 950 ppm), III = L-Alanin-hydrobromid in Wasser (Konz.: entsprechend 1000 ppm), IV = 0,1proz. wäßrige Lösung von Tensid 19 (Kontrollversuch), V = Wasser (Kontrollversuch)

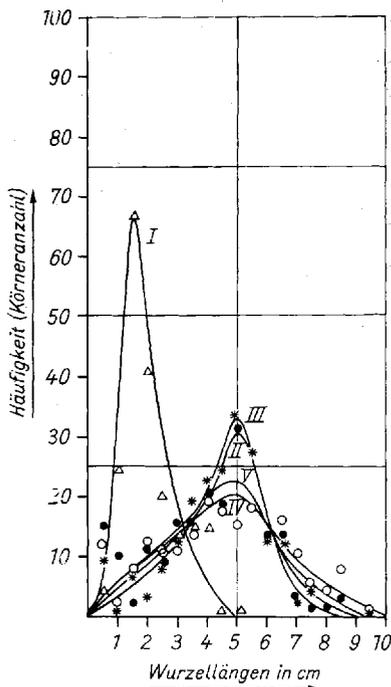


Abb. 3. Wurzellängen-Häufigkeits-Diagramm von Senf, nach 3tägiger Keimung bei 27,5°C im Brutschrank.

I = L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat in Wasser (Konz.: 400 ppm), II = p-Aminoazobenzolhydrobromid in 0,1% Tensid 19 (Konz.: entsprechend 380 ppm), III = L-Alanin-hydrobromid in Wasser (Konz.: entsprechend 400 ppm), IV = 0,1proz. wäßrige Lösung von Tensid 19 (Kontrollversuch), V = Wasser (Kontrollversuch)

nächst p-Aminoazobenzolhydrobromid zur Prüfung herangezogen. Da die Verbindung in Wasser schwer löslich ist, wurden Lösungen der Substanz in herbizid inaktivem 0,1proz. Tensid 19<sup>11)</sup> (1 cm<sup>3</sup> Tensid 19 pro 1000 cm<sup>3</sup>

<sup>11)</sup> Hersteller: VEB Fettchemie Karl-Marx-Stadt.

Wasser) zur Messung verwendet. Zum Einsatz gelangten p-Amino-azobenzol-hydrobromid Konzentrationen, die wäßrigen Lösungen von 950 ppm, 380 ppm und 285 ppm L-Alanin-4-(phenylazo)-phenyl-amid-sulfat entsprechen. Wie aus den Abb. 2 und 3 ersichtlich ist, so sind bereits p-Aminoazobenzol-Lösungen in Konzentrationen entsprechend 380 ppm phytotoxisch völlig unwirksam. Bei Konzentrationen entsprechen 950 ppm treten geringfügige Wachstumshemmungen auf, ohne die für das L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid charakteristischen Vergiftungserscheinungen des Wurzelgewebes (es erfolgt relativ rasch eine Regenerierung der Senf-Keimlinge).

Wie L. FOWDEN<sup>12)</sup> feststellte, sind einige Aminosäuren in der Lage, das Wachstum von Sämlingen zu hemmen. Aus diesem Grunde war es nötig zu prüfen, ob der Aminosäure-Anteil im L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid Träger einer herbiziden Wirksamkeit ist. Die Versuche ergaben jedoch, daß z. B. L-Alanin-hydrobromid (neben geringen Wachstumshemmungen) auch dann keine phytotoxischen Effekte auf die Senfkeimung ausübt, wenn es in 0,0030 molarer wäßriger Lösung (entsprechend der Konzentration von 1000 ppm L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat) eingesetzt wird (vgl. Abb. 2 und 3).

Die durchgeführten Keimtestungen zeigen, daß phytotoxische Wirkungen hauptsächlich dann auftreten, wenn die nicht bzw. schwach herbiziden Komponenten L-Alanin und p-Aminoazobenzol durch Amidbindung zu L-Alanin-4-(phenylazo)-phenyl-amid verknüpft werden. Die Versuche deuten somit darauf hin, daß an der Entfaltung herbizider bzw. phytotoxischer Eigenschaften die Amid-Gruppierung wesentlich beteiligt ist.<sup>13)</sup>

## II. Aufnahme des L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-Wirkstoffs durch Pflanzenwurzeln

Um die Aufnahme des L-Alanin-4-(phenylazo)-phenyl-amids durch die Wurzeln der Pflanzen zu studieren, wurden die weniger empfindlich reagierenden und zur Anfertigung von Wurzelschnitten sehr gut geeigneten Mais-Pflanzen (3wöchig) als Untersuchungsobjekte verwendet. Mikroskopische Querschnittsbilder von Maiswurzeln, die 3 Tage mit 0,00060 molaren wäßrigen Lösungen des L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfats (400 ppm) behandelt wurden zeigten, daß der Wirkstoff durch Wurzelspitze und Wurzelhaare aufgenommen, in dem Zentralzylinder gespeichert wird. Wie aus Abb. 4 hervorgeht, sind dabei besonders die Xylemparenchym-, Perizykol- und Endodermis-Zellen betroffen. Außerdem difundiert der Wirkstoff an der gesamten Wurzeloberfläche in die Epidermis und Exodermis hinein.

<sup>12)</sup> J. exp. Bot. (London) **14**, 387 (1963).

<sup>13)</sup> Vgl. auch E. I. O. BYSTROVA, Chim. v. selskom Chosjajstve Moskva **2**, 41 (1964).

Beim Ansäuern der Schnitte mit Salpetersäure oder besser mit Salzsäure tritt eine intensive Rotfärbung derjenigen Zellen auf, die sich in der Umgebung der Leitgefäße des Zentralzylinders befinden (Abb. 5).

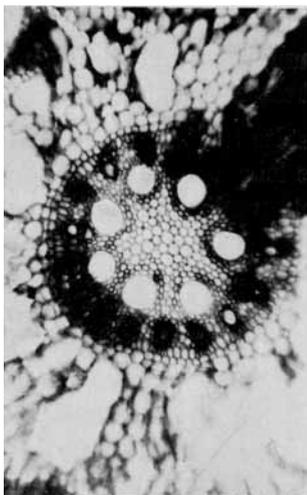


Abb. 4. Querschnitt durch die Wurzel einer 3wöchigen Maispflanze, behandelt mit L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat-Lösung (400 ppm). 117fache Vergrößerung

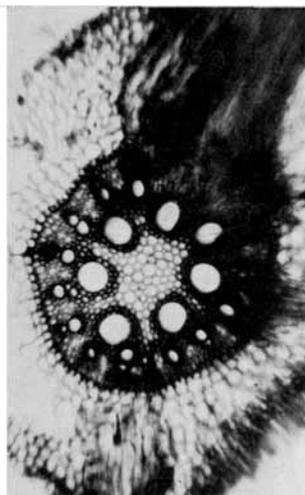
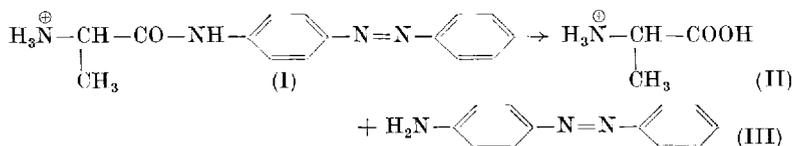


Abb. 5. Querschnitt durch die Wurzel einer 3wöchigen Maispflanze, behandelt mit L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat-Lösung (400 ppm), nachbehandelt mit 1 Tropfen konz. Salzsäure. 117fache Vergrößerung

Da diese Farbreaktion charakteristisch für p-Aminoazobenzol ist, muß angenommen werden, daß der im Zentralzylinder gespeicherte phytotoxische L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-Farbstoff vor allem in der Nähe der Leitgefäße einen teilweisen Abbau zu inaktivem p-Aminoazobenzol erfährt. Diese Umwandlung (I → III) kann nur als Spaltung der Amid-Bindung formuliert werden:



Das Amin (III) gelangt ungehindert in den Stengelteil. Mikroskopische Schnitte ergaben, daß es dort in den Spiralgefäßen (Mais) transportiert wird. Eine analoge Wanderung des ungespaltenen L-Alanin-4-(phenylazo)-

phenylamids ist nicht wahrscheinlich, da im Laufe der Farbstoffaufnahme eine Konzentrierung des Phenylazo-phenylamids hauptsächlich in der Wurzelspitze stattfindet, die zu nekrotischen Veränderungen des Zellgewebes führt (vgl. Abschn. I).

### III. Qualitativer Nachweis der Spaltung der Amid-Bindung mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie

Um die an Maiswurzelschnitten beobachtete Spaltung des L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamids auch außerhalb des lebenden Zellverbandes nachzuweisen, wurden wäßrige Wurzel-, Stengel- und Blatt-Extrakte von 3-

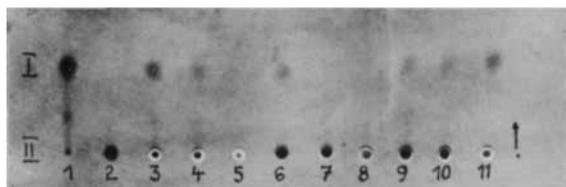


Abb. 6. Dünnschichtchromatographischer Nachweis der Spaltung von L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid durch Pflanzen-Extrakte bei 21 °C. Reaktionszeit: 36 Stunden. Dünnschichtmaterial: Kieselgel-G (3,5 g pro 12 cm<sup>3</sup> Wasser), Laufmittel: Petroläther/Essigester = 17:3, Laufstrecke: 2 × 12 cm, Plattengröße: 12 × 24 cm.

1 = p-Aminoazobenzol, 2 = L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat (Blindwerte). Spaltversuche durch Extrakte: 3 = Maiswurzel-, 4 = Maismittelstengel-, 5 = Maisblatt-Extrakt, 6 = Senfwurzel-, 7 = Senfstengel-, 8 = Senfblatt-Extrakt, 9 = Luzernewurzel-, 10 = Luzernestengel-, Luzerneblatt-Extrakt

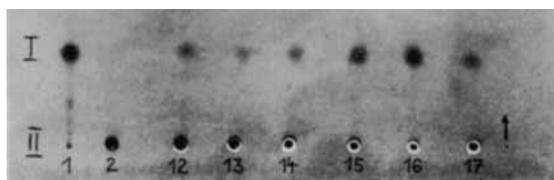


Abb. 7. Dünnschichtchromatographischer Nachweis der Spaltung von L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid durch Pflanzen-Extrakte. Bedingungen wie bei Abb. 6,

1 = p-Aminoazobenzol, 2 = L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat (Blindwerte), Spaltversuche durch Extrakte: 12 = Weizenwurzel-, 13 = Weizenstengel-, 14 = Weizenblatt-Extrakt, 15 = Ackerbohnenwurzel-, 16 = Ackerbohnenstengel-, 17 = Ackerbohnenblatt-Extrakt

wöchigen, auf reinem Seesand mit dest. Wasser bei 21 °C aufgezogenen Mais-, Senf-, Luzerne-, Weizen- und Ackerbohnen-Pflänzchen hergestellt. Gemische dieser Auszüge mit 0,0015 molaren wäßrigen Lösungen von L-Alanin-4-nylazo)-phenylamid-sulfat (1000 ppm) im Verhältnis 1:4 wurden nach 36stündigem Stehen bei 21 °C an Kieselgel-G-Dünnschichten<sup>14)</sup> unter Verwendung des Laufmittel-Systems Petroläther/Essigester = 17:3 chromatographiert. Dabei zeigt sich, daß die meisten der pflanzlichen Extrakte auch in vitro in der Lage sind, die Amid-Bindung zu spalten, wobei p-Aminoazobenzol entsteht (I in Abb. 6—7). Das ungespaltene L-Alanin-4-(phenylazo)-phenyl-

<sup>14)</sup> Verwendet wurde Kieselgel-G der Fa. E. Merck, Darmstadt.

amid verbleibt dabei am Startpunkt der Chromatogramme (II in Abb. 6—7).

Da nach 30 Minuten auf 100 °C erhitzte Pflanzenteil-Extrakte nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur keine Spaltung des Amid-Farbstoffs hervorrufen, muß die Reaktion auf enzymatische Einflüsse zurückzuführen sein.

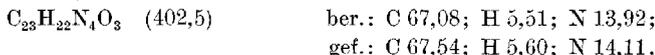
Die vorliegenden Ergebnisse lassen hoffen, daß mit Hilfe der farbigen Phenylazo-phenylamide ein tieferer Einblick in die Wirkungsweise der Herbizide mit Amid-Struktur gewonnen werden kann. In diesem Zusammenhang wird es auch wichtig sein festzustellen, welche Zellstrukturen mit den Phenylazo-phenylamiden in Wechselwirkung treten und welche Vorgänge in der Zelle die eigentlichen Träger der phytotoxischen Effekte sind.

## Beschreibung der Versuche

### I. Darstellung von L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid

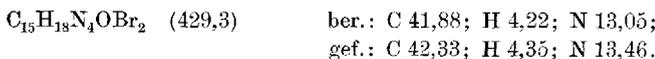
#### 1. Cbo-L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid

Analog der Synthese von Cbo-Aminosäure-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylestern<sup>15)</sup> werden 0,02 mol Cbo-L-Alanin (4,46 g) in 70 cm<sup>3</sup> absol. Tetrahydrofuran gelöst, mit 0,02 mol absol. Triäthylamin (2,8 cm<sup>3</sup>) versetzt und bei -15 °C mit 0,02 mol Chlorameisensäure-äthylester (1,8 cm<sup>3</sup>) umgesetzt. Zu dem entstehenden gemischten Anhydrid wird nach 1/2-stündigem Rühren bei -15 °C eine Lösung von 0,02 mol p-Aminoazobenzol (3,94 g) in 70 cm<sup>3</sup> absol. Tetrahydrofuran innerhalb von 1 Minute gefügt. Das Reaktionsgemisch wird dann nach je 1stündigem Rühren bei -15 °C und bei +20 °C wie üblich aufgearbeitet<sup>4)</sup>. Ausbeute = 5,50 g, 68% d. Th. Die Reinigung erfolgt durch Umfällen des Rohproduktes aus Tetrahydrofuran/Petroläther, gelbe Kristalle vom Schmp. 203—204,5 °C,  $[\alpha]_D^{25} -40,7^\circ$  ( $c = 0,37$  in Tetrahydrofuran).



#### 2. L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-dihydrobromid

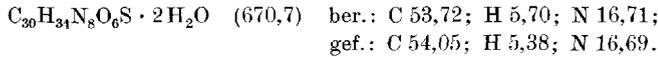
4,02 g (0,01 mol) Cbo-L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid werden mit 15 cm<sup>3</sup> einer gesättigten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig versetzt und bis zum Abklingen der Kohlendioxid-Entwicklung bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die dunkelrote Lösung wird danach mit 100 cm<sup>3</sup> absol. Äther versetzt, wobei das L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-dihydrobromid als roter kristalliner Niederschlag zur Ausfällung gelangt. Nach dem Absaugen wird das Produkt solange mit absol. Äther gewaschen, bis der Geruch nach Benzylbromid verschwunden ist. Ausbeute = 4,28 g, 100% d. Th. Zur weiteren Reinigung kann das Rohsalz aus siedendem Eisessig umkristallisiert werden.  $[\alpha]_D^{25} +31,43^\circ$  ( $c = 0,35$  in Wasser).



<sup>15)</sup> A. BARTH, J. prakt. Chem. (4), **27**, 181 (1965).

## 3. L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat

0,700 g L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-dihydrobromid werden in 10 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und dazu schnell 15 cm<sup>3</sup> einer gesättigten Lösung von Natriumsulfat in Wasser gefügt, wobei sofort ein gelber Niederschlag ausfällt. Nach 4stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird dieser abgesaugt, mit wenig eiskaltem Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Die Reinigung erfolgt durch zweimaliges Umkristallisieren des Rohproduktes aus heissem Wasser. Ausbeute = 0,355 g, 64% d. Th. Verfilzte gelbe Nadeln vom Schmp. 258 bis 260 °C,  $[\alpha]_D^{25} + 37,58^\circ$  ( $c = 0,24$  in Tetrahydrofuran/Wasser = 1:1).



## II. Durchführung der Keimtestungen

Zur Ermittlung der phytotoxischen Wirksamkeit des L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamids wird die Hemmung des Keimwurzelwachstums von Senf (*sinapis alba*) in Abhängigkeit von der Substanzkonzentration verfolgt und mit den herbiziden Effekten der Lösungen von p-Aminoazobenzol sowie L-Alanin in Tensid 19 bzw. Wasser verglichen. Die zum Einsatz gelangenden Konzentrationen an Wirkstoff und Vergleichssubstanzen sind in nachstehender Tabelle aufgeführt.

Tabelle 1

	Lösungs- mittel	mg/100 cm <sup>3</sup>	ppm	Molarität
I. Wirkstoff:	Wasser	100	1000	0,0015
L-Alanin-4-(phenyl- azo)-phenylamid- sulfat	Wasser	40	400	0,00060
	Wasser	30	300	0,00045
II. Vergleichsprobe:	Wasser	50,2	entsprechend 1000 I	0,0030
L-Alanin-hydro- bromid	Wasser	20,1	entsprechend 400 I	0,00120
	Wasser	15,1	entsprechend 300 I	0,00090
III. Vergleichsprobe:	Tensid 19	78,7	entsprechend 950 I	0,0029
p-Aminoazobenzol- hydrobromid	Tensid 19	30,7	entsprechend 380 I	0,0011
	Tensid 19	23,8	entsprechend 285 I	0,00086
IV. Vergleichsprobe	Wasser	—	—	—
V. Vergleichsprobe	Tensid 19	—	—	—

Zur Durchführung der Testungen werden 40 Senf-Körner in einer Petrischale ( $\varnothing$  12 cm) auf Filtrierpapier gleichmäßig verteilt, mit 5 cm<sup>3</sup> der jeweiligen Substanzlösung befeuchtet und die Wurzellängen der Keimlinge nach 3tägigem Stehen des Ansatzes im Brutschrank bei 27,5 °C vermessen. Durch viermalige Wiederholung des Versuches unter konstanten Bedingungen kann der Keimungsverlauf insgesamt an 200 Sämlingen pro Lösungstyp ausgewertet und graphisch in Abhängigkeit der Wurzellängen nach der Häufigkeit dargestellt werden. Im vorliegenden Falle wurden dabei Klassenbreiten von 0,5 cm gewählt, d. h. die Häufigkeiten in Wurzellängen-Abständen von jeweils 0,5 cm ermittelt. In den resultierenden Wurzellängen-Häufigkeits-Diagrammen ist für die herbizide Wirkung einer Substanz u. a. die Lage des Kurvenmaximums charakteristisch und kann zum Vergleich der phytotoxischen Aktivität herangezogen werden.

### III. Dünnschichtchromatographischer Nachweis der Amidspaltung *in vitro*

In offenen Gefäßen, die mit reinem, ausgeglühtem Seesand beschicht sind, wird jeweils Senf, Mais, Luzerne, Weizen und Ackerbohne ausgesät und durch regelmäßigen Zusatz von dest. Wasser ein annähernd gleichmäßiger Feuchtigkeitsgehalt des Saatbettes erreicht. Nach 3wöchigem Stehen bei Zimmertemperatur werden die aufgewachsenen Pflänzchen aus den Gefäßen entfernt, gut mit dest. Wasser gespült und je nach Größe der Arten 7 (Mais, Ackerbohne), 15 (Senf, Weizen), 25 (Luzerne) Pflanzen in Wurzel-, Stengel- sowie Blatt-Teile zerlegt. Die Extrakte werden hergestellt durch Zerreiben der Pflanzenteile im Mörser unter Zusatz von 2 cm<sup>3</sup> dest. Wasser und anschließendes Abzentrifugieren der groben Zellbestandteile.

Jeweils 1 cm<sup>3</sup> der getrübten Pflanzenteil-Extrakte wird mit 4 cm<sup>3</sup> L-Alanin-4-(phenylazo)-phenylamid-sulfat-Lösung (1000 ppm) versetzt. Nach gutem Durchmischen werden die Ansätze in geschlossenen Gefäßen 36 Stunden bei 21 °C stehen gelassen und danach Proben auf Kieselgel-G Dünnschichtplatten im Abstand von 2 cm aufgetragen. Nach dem Trocknen der Flecken mit Warmluft werden die Chromatogramme im Laufmittel-System Petroläther/Essigester = 17:3 entwickelt. Die Dokumentation erfolgt, wie bereits beschrieben<sup>15)</sup>, auf photographischem Wege durch Anfertigung von Luminiszenz-Aufnahmen.

Bernburg (Saale), Lehrstuhl Chemie des Instituts für Naturwissenschaften der Hochschule für Landwirtschaft.

Bei der Redaktion eingegangen am 12. März 1965.