

Wirkungsmechanismus und Struktur-Aktivitätsbeziehungen
des Aminotriazinon-Herbizids Metribuzin *

Hemmung des photosynthetischen Elektronentransports von Chloroplasten durch Metribuzin *

Mode of Action and Structure-Activity-Relationships of the Aminotriazinone
Herbicide Metribuzin

Inhibition of Photosynthetic Electron Transport in Chloroplasts by Metribuzin

A. Trebst und H. Wietoska

Abteilung Biologie, Ruhr-Universität Bochum

(Z. Naturforsch. 30 c, 499–504 [1975] ; eingegangen am 7. April 1975)

Photosynthesis, Chloroplasts, Herbicide, Metribuzin, Aminotriazinone

The influence of the aminotriazinone herbicide Metribuzin on photosynthetic reactions of isolated chloroplasts is investigated. Metribuzin inhibits all Hill-reactions when water is the electron donor, but not photoreductions by photosystem I at the expense of an artificial electron donor. The $P_{I_{50}}$ -value is 6.7. Cyclic photophosphorylation is not affected by Metribuzin. Measurements of the prompt and delayed fluorescence of the photosynthetically active chlorophyll support the notion, that Metribuzin inhibits photosynthetic electron flow between the primary and secondary electron acceptor of photosystem II (Q and plastoquinone).

The relationship of inhibitory potency to chemical structure is investigated by comparing a number of related aminotriazinones. The effect of various substituents is discussed.

Einleitung

Eine große Zahl kommerzieller Herbizide sind Hemmstoffe des photosynthetischen Elektronentransportes (siehe Übersichten ¹⁻³). Dazu gehören Derivate der Substanzklassen Harnstoffe, Anilide, Triazine und Phenylcarbamate. Vor einigen Jahren haben wir gezeigt, daß auch 4-Amino-1.2.4-triazinone Hemmstoffe des photosynthetischen Elektronentransportes sind ^{4,5}. Das 3-Methylthio-6-*tert*-butyl-4-amino-1.2.4-triazin-5-on = Metribuzin ist inzwischen unter dem Namen Sencor® als kommerzielles Herbizid eingeführt worden ⁶. Seine Wirkung auf den pflanzlichen Stoffwechsel wurde beschrieben ⁷. Sie bestätigt, daß Metribuzin ein Photosynthese-Hemmstoff ist. Es war deshalb von Interesse, zur Kenntnis des Wirkungsmechanismus von Metribuzin die exakte Lokalisation der Hemmstelle in den Primärreaktionen der Photosynthese festzulegen. Wir möchten über Versuche mit isolierten Thylakoidmembranen von Chloroplasten berichten und über den Vergleich der Wirkung von Metribuzin

mit der von anderen Aminotriazinonen zur Festlegung von Strukturaktivitätsbeziehungen.

Methodik

Gewaschene, vesikuläre Thylakoidmembranen aus Chloroplasten wurden aus Spinatblättern nach Nelson *et al.* ⁸ gewonnen. Ihre photosynthetische Aktivität wurde bei 15 °C und Belichtung mit 35 000 lx gemessen. das Reaktionsmedium enthielt in 3 ml in μ mol: Trispuffer pH 8,0 160; $MgCl_2$, ADP, und anorg. Phosphat (mit 90 000 cpm ³²P) 10 und als Akzeptoren entweder $NADP^+$ 6 und Ferredoxin 0,01 oder Anthrachinon-2-sulfonsäure 0,1 oder K-Ferricyanid $20 \pm$ Phenylendiamin 0,3 (Photosystem II Akzeptor) und Chloroplasten mit einem Chlorophyllgehalt von 200 μ g. Mit Ausnahme des pseudocyclischen Systems mit Anthrachinonsulfonsäure wurde unter N_2 gemessen. In cyclischen Photophosphorylierungen wurde anstelle des Akzeptors PMS 0,1 oder Menadion 0,3 und TMPD 0,1 zugegeben und unter N_2 gemessen. Als Elektronendonorsystem für Photosystem I wurde

Abkürzungen: DAD, 2.3.5.6-Tetramethyl-*p*-phenylendiamin; DBMIB, Dibromthymochinon; DCMU, 3.4-Dichlorphenyl-dimethyl-harnstoff; PMS, Methyl-phenazonium-methosulfat; Q, Primärakzeptor von Photosystem II; TMPD, N.N.N'.N'-Tetramethyl-*p*-phenylendiamin.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. A. Trebst, Ruhr-Universität Bochum, Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen, D-4630 Bochum-Querenburg, Postfach 2148.

* Metribuzin = Sencor®



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

DAD 0,3 und Na-Ascorbat 20 verwendet und entweder unter Luft (Anthrachinonsulfonsäure) oder N_2 ($NADP^+$) gemessen. Die Sauerstoffentwicklung oder -aufnahme wurde manometrisch verfolgt, NADPH wurde bei 340 nm bestimmt und ADP durch den Einbau von P^{32} nach Conover⁹.

Der Einfluß von Metribuzin auf die prompte und verzögerte Fluoreszenz des Chlorophylls wurde an einer Algensuspension von *Chlorella pyrenoidosa* untersucht*. Dichte der Algensuspension: 10 μ l Algen (packed cell volume) pro ml Nährlösung. Die Proben wurden mit rotem Licht ($\lambda = 632,8$ nm) eines 15 mW He-Ne Lasers zur Photosynthese angeregt¹⁰.

Die prompte Chlorophyll-Fluoreszenz wurde nach 10 min Vorverdunkelung der Algensuspension bei einsetzender Belichtung als Fluoreszenzintensitäts-Zeit-Kurve registriert.

Die verzögerte Chlorophyll-Fluoreszenz wurde — ebenfalls als Induktionsphänomen — mit einem modifizierten Bequerelphosphoroskop gemessen¹⁰. Das Phosphoroskop lieferte repetitive Licht-Dunkel-Wechsel von 10 : 1 msec. Die einzelnen Meßpunkte der verzögerten Fluoreszenzemission in der Mitte der Dunkelzeit (0,5 msec) wurden auf einem Speicheroszillographen registriert. Das Meßergebnis ist in den Abbildungen als „kontinuierliche“ Intensitäts-Zeit-Kurve wiedergegeben. Die Meßtemperatur betrug 25 °C, Einwirkungsdauer von Metribuzin auf die Algensuspension 10 min.

Die untersuchten Aminotriazianonverbindungen wurden uns freundlicherweise von Dr. W. Draber, Forschungszentrum Wuppertal der Bayer AG, zur Verfügung gestellt.

Ergebnisse

Isolierte Thylakoid-Membranen von Chloroplasten entwickeln beim Belichten Sauerstoff, wenn ein geeigneter Elektronenakzeptor, wie K-Ferricyanid, zugegeben wird. Zur Photoreduktion von $NADP^+$ muß außerdem noch Ferredoxin zugesetzt werden. Anthrachinon-2-sulfonsäure ist eine autoxidable Substanz, so daß in Luft die reduzierte Form sofort wieder mit Sauerstoff reoxidiert wird. In diesem pseudocyclischen Elektronentransportsystem wird dann eine Sauerstoffaufnahme, statt Entwicklung, gemessen. Alle drei Hill-Reaktionen sind mit einer stöchiometrischen ATP-Bildung gekoppelt.

Wie Tab. I zeigt, werden alle drei Hill-Reaktionen durch Metribuzin in einem Konzentrationsbereich zwischen 16 und 33 μ g/ml ($0,8 - 1,6 \cdot 10^{-7}$ M) gehemmt. Die Zugabe eines Entkopplers, hier Gramicidin D, ändert daran nichts. Wegen der aufgehobenen, limitierenden, photosynthetischen Kontrolle ist die in einem entkoppelten System gemessene Hemmung die korrektere Messung.

Abb. 1 zeigt die Abhängigkeit der Hemmwirkung von der Konzentration Metribuzin auf den entkoppelten, pseudocyclischen Elektronentransport. Die für eine 50% Hemmung notwendige Konzentration von 25 ng/ml ergibt ein PI_{50} -Wert von 6,7.

Die Hemmung der Photoreduktion von $NADP^+$ oder Anthrachinon-2-sulfonsäure kann durch Zugabe eines künstlichen Elektronendonors (DAD, durch Ascorbat reduziert gehalten) wieder aufgehoben werden¹¹. Dabei kann die Metribuzin-Konzen-

Elektronen-Akzeptor	Metribuzin [ng/ml]	O_2 [μ Äquival.]	ATP [μ mol]	NADPH [μ mol]
$NADP^+$	—	3,5	3,0	3,7
$NADP^+$	16	2,5	1,7	2,3
$NADP^+$	33	1,8	1,3	1,7
Anthrachinon	—	—4,2	3,8	
Anthrachinon	16	—2,3	2,1	
Anthrachinon	33	—1,9	1,7	
K-Ferricyanid	—	4,8	3,8	
K-Ferricyanid	33	2,8	2,2	
K-Ferricyanid	130	0,8	0,5	
K-Ferricyanid (+5 μ g Gramicidin D)	—	7,0		
K-Ferricyanid (+5 μ g Gramicidin D)	33	3,8		
K-Ferricyanid (+5 μ g Gramicidin D)	130	0,9		

Tab. I. Hemmung des photosynthetischen Elektronentransportes durch Metribuzin (15 min Licht in N_2 in $NADP^+$ und Ferricyanidsystem bzw. Luft im Anthrachinon-2-sulfonsäure-System).

* Die Versuche wurden von Dr. R. Bauer durchgeführt.

tration auf das 10- bis 100fache der zur Hemmung des Systems mit H_2O als Elektronendonator erhöht werden.

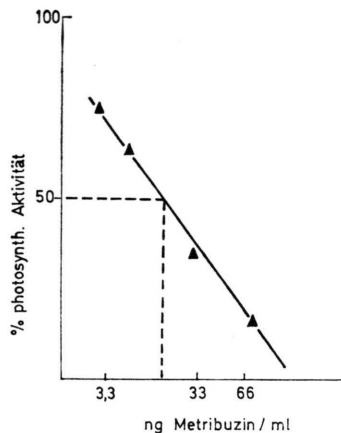


Abb. 1. Abhängigkeit der Hemmwirkung von der Konzentration Metribuzin (aus einer Meßreihe in einem entkoppelten pseudocyclischen System mit Antrachinonsulfonsäure unter den Bedingungen der Tab. I).

Metribuzin ist mithin kein Hemmstoff von Photosystem I (Tab. II).

Ein Elektronakzeptorsystem für Photosystem II (*p*-Phenylendiamin, das durch Ferricyanid im oxidierten Zustand gehalten wird), zu dem zusätzlich noch der Elektronenfluß zum Photosystem I durch den Plastochinon-antagonisten DBMIB (= Dibromthymochinon) unterbunden ist¹², wird dagegen genau wie die Gesamt-Hill-Reaktion über beide Photosysteme durch Metribuzin gehemmt (Tab. III). Auch

Tab. III. Einfluß von Metribuzin auf die Photoreduktion mit Photosystem II (15 min Licht; Phenylendiamin/Ferricyanid als Elektronenakzeptor, 10^{-6} M DBMIB in jedem Ansatz).

Metribuzin [ng/ml]	O ₂ [μÄquival.]	ATP [μmol]
—	6,5	3,0
33	3,6	1,7
130	1,5	0,5

Akzeptor	Metribuzin [ng/ml]	O ₂ [μÄquival.]	ATP [μmol]	NADPH [μmol]
NADP ⁺	—		4,5	4,0
NADP ⁺	330		2,9	3,5
NADP ⁺	3300		3,0	3,4
Antrachinon	—	— 7,5	7,4	
Antrachinon	330	— 6,3	4,8	
Antrachinon	3300	— 7,1	4,8	

die cyclische Photophosphorylierung mit PMS oder Menadion (letzterem wird eine katalytische Menge TMPD zugegeben¹³) wird nicht durch Metribuzin gehemmt, auch wenn dabei die 10- oder gar 100fache Menge Metribuzin eingesetzt wird (Tab. IV). Zum Vergleich ist hier DCMU mit angegeben, das sich analog Metribuzin verhält. Der Versuch bestätigt wiederum, daß Metribuzin keinen Einfluß auf Photosystem I hat. Weiterhin zeigt er, daß Metribuzin aber auch keinen Einfluß auf das ATP-Bildungssystem hat.

Tab. IV. Einfluß von Metribuzin auf die cyclische Photophosphorylierung (15 min Licht in N₂).

Kofaktor	Metribuzin [ng/ml]	ATP [μmol]
PMS	—	8,4
PMS	330	6,7
PMS	3300	6,0
Menadion (+ TMPD)	—	8,7
Menadion (+ TMPD)	330	5,5
Menadion (+ TMPD)	3300	3,2
Menadion (+ TMPD)	+ 2 · 10 ⁻⁵ M DCMU	2,5

Der Einfluß von Metribuzin auf die prompte und verzögerte Fluoreszenz bei einer Suspension von *Chlorella* zeigt Abb. 2. Die prompte Chlorophyllfluoreszenz ist ein Indikator für den Redoxzustand des primären Elektronakzeptors Q von Photosystem II¹⁴. Reduziertes Q schließt die Reaktionszentren von Photosystem II, so daß die Fluoreszenzausbeute erhöht wird. Oxidiertes Q öffnet die Reaktionszentren von Photosystem II für den Elektronenfluß, so daß die Fluoreszenzausbeute erniedrigt wird. Bei ungehemmtem Ablauf des Elektronentransportes spiegelt das Induktionsphänomen der Fluoreszenz das lichtinduzierte, gegenseitige Einpendeln der beiden Lichtreaktionen bis zum Gleichgewichtszustand wieder. Bei Hemmung des Elektronentransportes zwischen den beiden Photosystemen bleibt Q reduziert, und die Fluoreszenz steigt auf einen maximalen Wert an. Aus der spezifischen Veränderung

Tab. II. Einfluß von Metribuzin auf die Photoreduktion mit Photosystem I (15 min Licht, DAD/Asc. als Elektronendonator, N₂ im NADP⁺-System, Luft im Antrachinon-2-sulfonsäure-System).

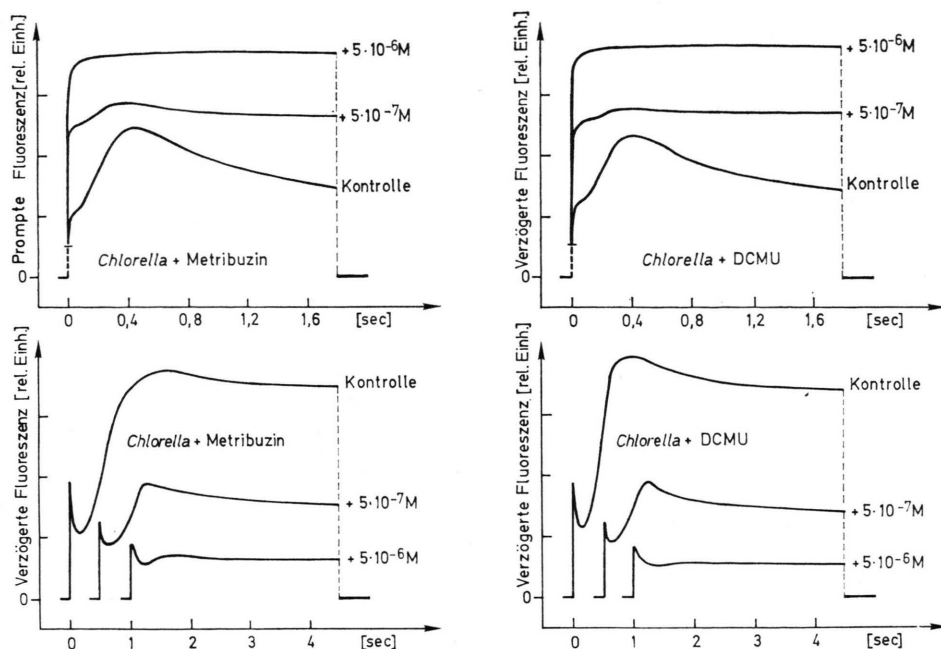


Abb. 2. Der Einfluß von Metribuzin und DCMU auf die prompte und verzögerte Chlorophyllfluoreszenz-Induktion von *Chlorella pyrenoidosa*. Temperatur 25 °C. Intensität des Anregungslichtes ($\lambda = 632,8$ nm) für die prompte Chlorophyllfluoreszenz-Messung: $3 \cdot 10^4$ erg/cm²·sec; für die verzögerte Chlorophyllfluoreszenz-Messung: $1,5 \cdot 10^5$ erg/cm²·sec. Versuch von R. Bauer.

der Fluoreszenzinduktionskinetik bei Zugabe eines Hemmstoffes kann auf die Hemmstelle vor oder nach Plastochinon geschlossen werden (zu Einzelheiten siehe ¹⁰). Wie Abb. 2 zeigt, erhöht sich die prompte Fluoreszenz von Photosystem II bei Zugabe von $5 \cdot 10^{-6}$ M Metribuzin auf einen maximalen Wert, d. h. die Hemmung des Elektronentransportes tritt nach Q und vor Plastochinon ein. Dies entspricht dem Verhalten von DCMU.

Die verzögerte Fluoreszenzemission tritt nach Abschalten der Belichtung im Dunklen auf, und ist auf die Rückreaktion der geladenen Reaktionsprodukte von Photosystem II, vermutlich unter Beteiligung des Membranpotentials über die Thylakoidmembran, zurückzuführen ¹⁵. Wie Abb. 2 zeigt, nimmt die verzögerte Chlorophyllfluoreszenzemission in Gegenwart von Metribuzin gleichsinnig wie die von DCMU mit steigender Konzentration ab. Die Ursache dafür ist wiederum in der Hemmung des Elektronentransportes zu suchen.

Tab. V vergleicht die Hemmwirkung einiger Amino-triazinone, die in ihrer Substitution dem Metribuzin nahe stehen. Der Vergleich der PI_{50} -Werte ergibt, welche Substituenten mit welchem Wirkungsverlust ausgetauscht werden können. Die Aminogruppe in 4-Stellung kann methyliert (Me-

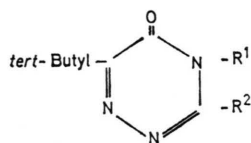
thyl-Metribuzin = Verbindung 2) und acyliert werden mit keinem oder geringem Einfluß auf die Aktivität als Hemmstoff.

Das Dimethyl-Metribuzin (Verbindung 3) hat jedoch kaum noch Hemmwirkung. Die Hemmwirkung der Schiff'schen Base von Metribuzin mit Isobutylaldehyd (Verbindung 5) setzt vermutlich ihre Hydrolyse voraus. Dies wird durch einen Zeitverzug der Hemmung in Chloroplasten gestützt, denn ohne Vorinkubation zeigt die Verbindung nur geringe Hemmwirkung.

Ersatz der Methylthiogruppe in 3-Stellung durch Methoxy- oder Methylamino-(Verbindung 7) hat nur geringfügigen Einfluß auf die Hemmwirkung. Die zur Tautomerie befähigten OH- oder SH-Derivate (Verbindungen 9 und 10) zeigen jedoch keine, oder nur noch geringe, Hemmwirkung. Die 3-Alkylsubstitution führt zu ebenso aktiven Hemmstoffen wie Metribuzin. Nach einer Optimierung der Hemmwirkung bei einer Kettenlänge von C₂ (Verbindung 12) fällt jedoch die Hemmwirkung wieder ab. Das 3-Phenylderivat (Verbindung 15) ist inaktiv.

Die Metribuzin-Abbauprodukte (Verbindungen 16–18) sind inaktiv bzw. haben stark verminderte Hemmwirkung.

Tab. V. Hemwirkung von Metribuzin im Vergleich mit anderen substituierten Triazinonen (PI_{50} -Wert bestimmt aus einer Hemmkurve in einem entkoppelten pseudocyclischen Elektronentransport mit Anthrachinonsulfonsäure als Akzeptor).



Verbindung	R ¹	R ²	PI ₅₀
(1) Metribuzin	NH ₂	SCH ₃	6,7
(2) Methyl-Metribuzin	NHCH ₃	SCH ₃	6,51
(3) Dimethyl-Metribuzin	N(CH ₃) ₂	SCH ₃	3,4
(4) Acetyl-Metribuzin	NH COCH ₃	SCH ₃	4,78
(5) Schiff-Base	N=CH—CH(CH ₃) ₂	SCH ₃	6,2 *
6	NH ₂	H	<3
7	NH ₂	NHCH ₃	5,99
8	NH ₂	OCH ₃	5,6
9	NH ₂	OH	inaktiv
10	NHCH ₃	SH	3,6
11	NH ₂	CH ₃	4,78
12	NH ₂	C ₂ H ₅	6,89
13	NH ₂	<i>i</i> -C ₃ H ₇	6,62
14	NH ₂	<i>i</i> -C ₄ H ₉	4,51
15	NH ₂	Phenyl	inaktiv
(16) Metribuzin Metabolit	NH ₂	OH	inaktiv
(17) "	H	SCH ₃	4,05
(18) "	H	OH	<3
(19) Phenyl statt <i>tert</i> -Butyl in 6-Stellung	NH ₂	SCH ₃	6,6

* Nach 60 h Vorinkubation im Reaktionsansatz ohne Chloroplasten.

Über die Wirkung anderer Substituenten in der 6. Stellung ist schon berichtet worden ^{4,5}. Das Phenyl- statt *tert*-Butyl-derivat ist ebenso aktiv (Verbindung 19).

Diskussion

Die Untersuchung der Hemmwirkung von Herbiziden auf isolierte, zellfreie, biochemische Systeme hat den Vorteil, daß die Hemmpotenz einer Substanz bzw. Substanzklasse eindeutig festgelegt werden kann. Die bei *in vivo* Versuchen auftretenden Probleme der Aufnahme, der Permeation und des Transportes zum Wirkungsort können zum limitierenden Schritt der Reaktionskette: Applikation bis

zur primären Hemmwirkung, werden und damit den eigentlichen Wirkungsmechanismus verschleiern (siehe Diskussion in ¹⁶).

Die vorliegenden Ergebnisse mit isolierten Chloroplasten zeigen eindeutig, daß Metribuzin ein sehr potenter Hemmstoff des photosynthetischen Elektronenflusses ist. Sein PI_{50} -Wert = negativer Logarithmus der Konzentration, die 50% Hemmwirkung hervorruft, liegt bei 6,7 (wir hatten in einer vorläufigen Mitteilung einen Wert 6,63 angegeben ⁴). Dieser hohe Wert bzw. kleine Konzentration, die zu einer Hemmung nötig ist, läßt den Schluß zu, daß Metribuzin auch *in vivo* die Photosynthese hemmt. Dies wurde durch Versuche mit intakten Pflanzen ^{6,7} direkt bestätigt.

Die Hemmstelle von Metribuzin läßt sich sehr exakt angeben. Metribuzin hemmt in gleicher Konzentration sowohl Hill-Reaktionen, die beide Photosysteme benötigen (NADP⁺, Anthrachinonsulfonsäure), aber auch solche, die nur durch Photosystem II (Phenylendiamin/Ferricyanid) getrieben werden. Dagegen sind Photoreduktionen mit nur Photosystem I auch durch die 100fache Metribuzinkonzentration nicht gehemmt. Auch die Photophosphorylierung, offenkettig oder cyclisch, wird durch sehr hohe Konzentration Metribuzin nicht beeinflusst. Der Kopplungszustand der Membran spielt bei der Hemmwirkung von Metribuzin keine Rolle. Aus dem Einfluß von Metribuzin auf die prompte und verzögerte Chlorophyllfluoreszenz von Photosystem II ergibt sich, daß die O₂-Entwicklung und Photosystem II selbst auch nicht gehemmt wird, sondern die Hemmstelle nach dem Primärakzeptor Q von Photosystem II liegt.

Die Hemmung der Primärreaktion der Photosynthese durch Metribuzin ist mithin sehr spezifisch; die Hemmstelle ist mit der etwa von Harnstoff-, Anilid- und Triazin-Derivaten identisch.

Die Untersuchung der Abhängigkeit der biologischen Aktivität von Hemmstoffen der Photosynthese an der Hemmstelle von Metribuzin von ihrer chemischen Struktur haben bei den verschiedenen Substanzklassen zur Charakterisierung eines sp²-Hybrides des $\text{—}\overset{\text{II}}{\text{C}}\text{—NH—}$ geführt (siehe Übersichten l.c. 1–3). Dieses allen Hemmstoffen mit diesem Wirkungsmechanismus eigene chemische Grundelement ist in Metribuzin nicht ohne weiteres zu erkennen. Durch Ausnahmen von der obigen Regel wurde aber erkannt, daß auch das freie Elektronenpaar am

N in Wechselwirkung mit der gehemmten Stelle in der Membran treten kann und eine nichtkovalente Bildung eingehen kann³. Damit konnten auch eine Reihe von Heterocyclen in das allgemeine Schema der Photosynthesehemmstoffe gebracht werden¹⁷, in dem das aktive Strukturelement im Heterocyclus enthalten ist. Gleiches gilt auch für die Aminotriazinone.

Wir haben bereits über die Strukturaktivitätsbeziehung einer ganzen Reihe von Aminotriazinonen berichtet^{4, 5, 16} und über den Stand des Versuches, die biologische Aktivität in Abhängigkeit von der chemischen Struktur in eine exakte Gleichung zu bringen., die den Einfluß von elektronischen und sterischen, chemischen Parametern und dem Verteilungskoeffizient aufzeigt (Hansch-approach¹). Metribuzin wurde bereits in diese Untersuchungen einbezogen^{4, 5}. Wie auch diese Arbeit zeigt, ist eine freie 4-Amino-Gruppe nicht essentiell, eine NHCH_3 -Gruppe (= Methyl-Metribuzin) führt zu einer ebenso aktiven Verbindung; das N,N-Dimethylderivat von Metribuzin ist jedoch inaktiv. Ein völliger Ersatz der Aminogruppe durch H oder andere Substituenten führt zwar zu einer Verminderung der Aktivität, nicht jedoch zu inaktiven Verbindungen. Dies haben wir kürzlich bei anderen Derivaten von Aminotriazinonen ausführlich beschrieben¹⁶. Dies ist insofern wichtig, als beschrieben wurde^{18, 19}, daß der lichtabhängige Abbau der Aminotriazinone mit einer Abspaltung der Amino-Gruppe beginnen kann. Dabei entstehen im wesentlichen inaktive Ver-

bindungen (**16** bis **18**), obwohl Rosen *et al.*¹⁸ eine höhere Hemmwirkung von Verbindung **17** im Vergleich mit Verbindung **1** findet, als wir berichteten.

Die Doppelbindung im Ring von **2** nach **3** muß für die aktive Hemmwirkung erhalten sein, deshalb muß entweder die Thio-Gruppe im Metribuzin oder die OH-Gruppe bei einem 3-Hydroxyderivat in 3-Stellung durch Alkylierung fixiert sein, um eine Tautomerie zu verhindern. Wir haben darüber schon bei den 6-Isopropylderivaten berichtet⁵. Dies ergibt sich auch aus der Inaktivität der Metribuzin-Abbauprodukte **16** und **18**, die wahrscheinlich beide in der 3-Oxoform vorliegen.

Die Methylthio-Gruppe ist keineswegs essentiell, auch Aminotriazinone mit anderen Gruppierungen an C_3 , die die Tautomerie verhindern, also OCH_3 , NHCH_3 und Alkylsubstitution sind hoch aktive Hemmstoffe¹⁶. Die Kettenlänge der Substituenten an C_3 ist wegen sterischer Effekte auf das aktive Zentrum jedoch von großer Bedeutung für eine Photosynthesehemmung. Dies gilt auch für die Herbizidwirkung²⁰, wie kürzlich bei analogen Verbindungen gezeigt wurde²⁰.

Eine Substitution an C_6 , also Ersatz der *tert*-Butylgruppe, ist durchaus ohne Aktivitätsverlust möglich, wie wir schon berichtet haben^{4, 5}. Die *tert*-Butylgruppe ist allerdings neben Phenyl optimal und wurde aus Gründen der Selektivität vorgezogen.

Die Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie unterstützt.

- ¹ C. Hansch, Progress in Photosynthesis Research (ed. H. Metzner), Vol. III, p. 1685, Tübingen 1969.
- ² D. E. Moreland, Progress in Photosynthesis Research (ed. H. Metzner), Vol. III, p. 1693, Tübingen 1969.
- ³ K. H. Büchel, Pestic. Science **3**, 89 [1972].
- ⁴ W. Draber, K. Dickoré, K. H. Büchel, A. Trebst u. E. Pistorius, Naturwissenschaften **55**, 446 [1968].
- ⁵ W. Draber, K. Dickoré, K. H. Büchel, A. Trebst u. E. Pistorius, Progress in Photosynthesis Research (ed. E. Metzner), Vol. III, p. 1789, Tübingen 1969.
- ⁶ L. Eue u. H. Tietz, Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer **23**, 312 [1972].
- ⁷ C. Fedtke, Pestic. Biochem. Physiol. **2**, 312 [1972].
- ⁸ N. Nelson, Z. Drechsler u. J. Neumann, J. Biol. Chem. **245**, 143 [1970].
- ⁹ T. E. Conover, R. L. Prairie u. E. Racker, J. Biol. Chem. **246**, 3204 [1971].
- ¹⁰ R. Bauer u. H. J. Wijnands, Z. Naturforsch. **29 c**, 725 [1974].
- ¹¹ A. Trebst u. E. Pistorius, Z. Naturforsch. **20 b**, 885 [1965].
- ¹² A. Trebst u. S. Reimer, Biochim. Biophys. Acta **305**, 129 [1973].
- ¹³ G. Hauska, W. Oettmeier, S. Reimer u. A. Trebst, Z. Naturforsch. **30 c**, 37 [1975].
- ¹⁴ L. N. M. Duysens, Progr. Biophys. **14**, 1 [1964].
- ¹⁵ A. R. Crofts, C. A. Wraight u. D. E. Fleischmann, FEBS-Letters **15**, 89 [1971].
- ¹⁶ W. Draber, K. H. Büchel, H. Timmler u. A. Trebst, Amer. Chem. Soc. ACS. Sym. Series, **2**, 100 [1974].
- ¹⁷ A. Trebst u. E. Harth, Z. Naturforsch. **29 c**, 232 [1974].
- ¹⁸ J. D. Rosen, M. Siewierski u. G. Winnett, J. Agr. Food Chem. **18**, 494 [1970].
- ¹⁹ B. E. Pape u. M. J. Zabik, J. Agr. Food Chem. **20**, 72 [1972].
- ²⁰ R. R. Schmidt, L. Eue u. W. Draber, Pestic. Science, im Druck.