



B Einleitung

In Deutschland wurde im Jahr 2011 ca. 6 Millionen Tonnen Raps produziert. Die stete Steigerung der Produktion ist auf die Verwertung des Rapsöls als Biodiesel zurückzuführen. $\frac{3}{4}$ der Rapsölproduktion wurde einzig zur Produktion des benötigten Biodiesels verwendet^[1].

Der Welthungerindex WHI zeigt die jährliche Entwicklung der Ernährungssituation der Weltbevölkerung. 14% der Weltbevölkerung sind chronisch oder akut unterernährt. Jedes Jahr sterben 5.5 Million Kinder an den Folgen ihrer Unterernährung^[2].

Somit ist eine Ertragssteigerung in der modernen Landwirtschaft von essentieller Bedeutung. Um dies zu erreichen, werden immer neue Pflanzenschutzmittel benötigt, weil immer mehr Schadorganismen Resistenzen gegenüber Pflanzenschutzmitteln entwickeln. So stellen Pilze, Unkräuter und Insekten neben den Wettereinflüssen die größte Bedrohung für die Ernteerträge dar.

Nicht selten dienen Naturstoffe, welche aus Mikroorganismen, Pflanzen und Pilzen isoliert werden, als Leitstrukturen in der Arzneimittelentwicklung oder dem Pflanzenschutz. Wegen der zumeist nur geringen Verfügbarkeit an isoliertem Material ist die organische Synthese ein unumgängliches Werkzeug für die Bereitstellung von Naturstoffen. Von besonders großem Interesse ist bei der Entwicklung neuer Methoden die Effizienz, Ökonomie und Ökologie. Einen wichtigen Beitrag dazu liefert die moderne Katalysechemie, insbesondere die Palladium-katalysierten C-C-Bindungsknüpfungen. Die Heck-Reaktion ist nur eine der vielen nützlichen Palladium-katalysierten Reaktionen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Totalsynthese von Spinosyn-Analoga, einer Naturstoffklasse, welche sich durch ihre selektive insektizide Wirkung auszeichnet. Besondere Schwerpunkte liegen auf der Untersuchung der Heck-Reaktion im Rahmen dieser Totalsynthese.



C Theoretische Grundlagen

1 Der moderne Pflanzenschutz

1.1 Pflanzenschutzmittel^[3]

Die bis heute erreichte Leistungsfähigkeit der Agrarindustrie ist maßgeblich auf den Einsatz von Pflanzenschutzmittel zurückzuführen.

Die Anforderungen an ein modernes Pflanzenschutzmittel sind vielfältig. So sollte es idealerweise eine selektive Wirkung auf Schadorganismen, keine Toxizität gegenüber Nutzorganismen und eine exzellente Umweltverträglichkeit aufweisen. Zur Vermeidung von Kreuzresistenzen sollte sich ferner der Wirkmechanismus von dem anderer Pflanzenschutzmittel unterscheiden. Außerdem muss die Bereitstellung des Wirkstoffes wirtschaftlich sein. Die wahrscheinlich größten Probleme im modernen Pflanzenschutz sind heute die Bienentoxizität und die Entwicklung von Resistenzen.

Ertragsausfälle können, neben rein wirtschaftlichen Schäden, im schlimmsten Fall existenzbedrohende Ausmaße annehmen. Um eine Schädigung der Kulturpflanze und ihrer Früchte zu verhindern, sind Pflanzenschutzmittel bis heute, trotz der Entwicklung neuer, leistungsfähiger Kulturpflanzen, unbestritten alternativlos. Neben den Witterungsbedingungen stellen Pilze, Unkraut und Insekten die größte Gefahr für den Ernteertrag dar.

Die ersten eingesetzten Pflanzenschutzmittel waren anorganischen Ursprungs und wegen ihrer unselektiven Wirkung auch für den Mensch und Nutzinsekten potenziell schädlich. Der moderne Pflanzenschutz sieht im Idealfall eine Anwendung von Pestiziden im Rahmen des integrierten Pflanzenschutzes vor. In diesem Konzept werden ökonomische und ökologische Aspekte des Pflanzenschutzes verknüpft und können bei einer Maximierung der biologischen und mechanischen Schutzmechanismen gleichzeitig eine Minimierung der chemischen Pestizide beinhalten^[4]. Ab 1. Januar 2014 wird innerhalb der EU die Anwendung des integrierten Pflanzenschutzes Pflicht^[5].



Die Pflanzenschutzmittel unterteilen sich ihren Zielorganismen nach in drei Sparten: Fungizide, Herbizide und Insektizide. Allein in Deutschland wurde im Jahr 2010 eine Wirkstoffmenge von 40844 t abgesetzt. Hierbei liefern die Herbizide mit ca. 40% den größten Anteil an den ausgebrachten Spritzmitteln^[6].

1.1.1 Fungizide^[7]

Fungizide sind chemische Verbindungen, die Pilzkrankungen der Pflanze, z. B. den Mehltau, bekämpfen.

Der Einsatz von Fungiziden reicht bis in die Mitte des 19. Jahrhunderts, als Schwefelkalk, eine Mischung aus Calciumpolysulfiden, zur Bekämpfung von Mehltau eingesetzt wurde. Ebenfalls anorganischem Ursprungs war auch die sogenannte Bordeaux-Brühe, eine Suspension von CuSO_4 in Kalkmilch, welche hervorragende Wirkeigenschaften gegen den falschen Mehltau *Plasmopara viticola* besitzt, jedoch aufgrund ihrer starken Basizität schwere Verätzungen verursacht und bei Überdosierung auch die Pflanze schädigt. Schwefelkalk wurde hingegen 2011 wieder für eine Anwendung im Pflanzenschutz zugelassen^[8].

Anfang des 20. Jahrhunderts etablierten sich die ersten organischen Fungizide. Diese Organo-Quecksilber-Verbindungen hatten trotz ihrer ausgezeichneten fungiziden Wirkung den Nachteil, dass sich giftiges Quecksilber in der Nahrungskette anreicherte. Die ersten Fungizide mit einer spezifischen Wirkungsweise waren die Carboxamide, Benzimidazole und die Sterol-Biosynthese-Inhibitoren.

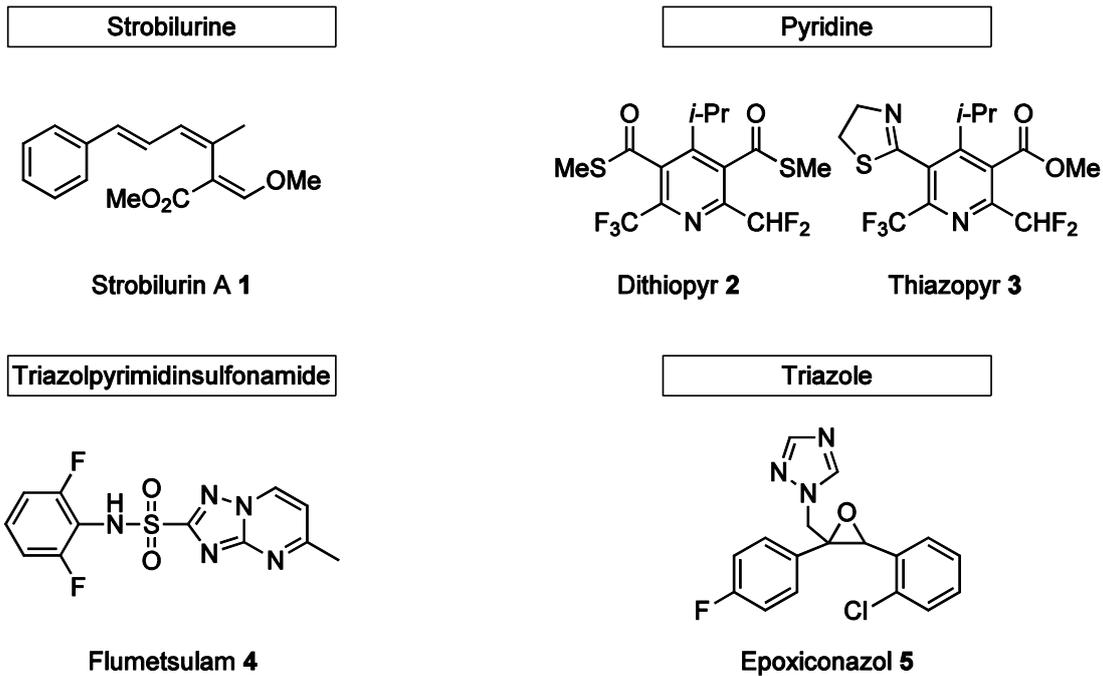


Abbildung 1: Beispiele für moderne Fungizide

Strukturell sind die Fungizide sehr vielfältig (Abbildung 1). Oftmals werden heterocyclische Systeme verwendet. So finden sich Di- und Triazole (z. B. Flumetsulam **4** oder Epoxiconazol **5**) und einfache Heterocyclen wie die hochsubstituierten Pyridinderivate Dithiopyr **2** und Thiazopyr **3** unter den gebräuchlichsten Fungiziden. Ferner hat auch die Einführung von Fluor-Substituenten zumeist einen positiven Einfluss auf die fungizide Wirkung.

Jedoch können auch Verbindungen ohne Heterocyclen eine gute biologische Aktivität aufweisen. Ein Beispiel dafür liefert das Strobilurin A **1**, welches eine ausgezeichnete fungizide Wirkung besitzt. Es ist die Leitstruktur für eine äußerst potente Wirkstoffklasse: die Strobilurine.

Eine wichtige Eigenschaft, welche ein Fungizid erfüllen sollte, ist neben einer guten Umweltverträglichkeit, eine gute Penetration des Gewebes der Pflanze. Dies stellt in der Entwicklung der Fungizide eine große Herausforderung dar. Innerhalb des Gewebes bildet sich so idealerweise ein Wirkstoffdepot, welches über einen längeren Zeitraum Wirkstoff an die Pflanze abgibt. Dies hat den Vorteil, dass das Fungizid nicht allzu häufig auf das Feld aufgetragen werden muss und ferner noch Wirkstoff

eingespart werden kann, da er nicht durch Regen ausgewaschen wird. Bis heute sind jedoch die Strobilurine die einzigen Fungizide, die dieses Kriterium erfüllen.

1.1.2 Herbizide^[9]

Herbizide zeichnen sich durch ihre Wirkung gegen Unkräuter und Ungräser aus. Der Einsatz dieser Substanzen ist zur Maximierung des Ernteertrages unerlässlich, da die „unerwünschte Begleitflora“ mit den Kulturpflanzen um die im Boden vorhandenen Nährstoffe konkurriert.

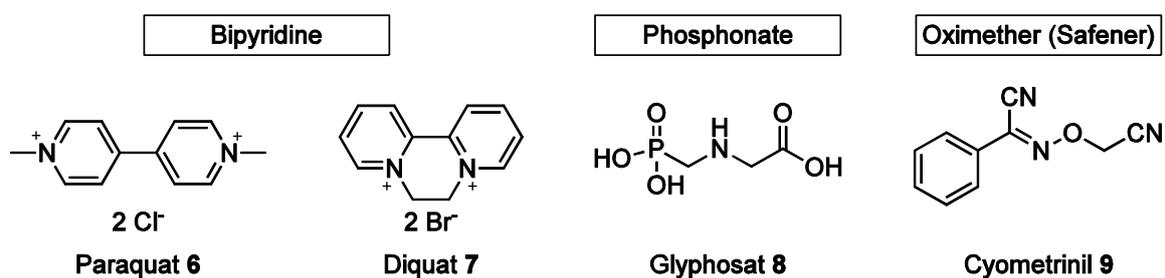


Abbildung 2: Beispiele für Herbizide und Safener

Die Bekämpfung der Unkräuter kann manuell oder chemisch erfolgen. Da die manuelle Entfernung des Unkrautes nicht sehr effizient ist, werden Herbizide eingesetzt. Eine selektive Wirkung des Herbizides kann nur dann gewährleistet werden, wenn die Kulturpflanze den Wirkstoff schnell abbaut und so nicht geschädigt wird. Zumeist müssen den Herbiziden sogenannte „Safener“ (z. B. Cyometrinil **9**) zugesetzt werden, da viele Wirkstoffe auch das Wachstum der Kulturpflanze hemmen. Diese „Safener“ induzieren die entsprechenden Abbauprozesse in der Kulturpflanze und werden zumeist dem Saatgut oder auch dem Herbizid direkt beigefügt.

Herbizide werden anhand ihres Wirkmechanismus klassifiziert. Es gibt etwa 19 wirtschaftlich interessante molekulare Targets, welche sich zumeist in den Chloroplasten der Pflanzenzellen befinden. So wird zum Beispiel die Photosynthese oder die Zellteilung gehemmt und lässt das Unkraut so absterben. Zu den Inhibitoren des Photosystem I gehören z. B. Paraquat **6** und Diquat **7**. Zu den kommerziell erfolgreichsten Pflanzenschutzmitteln zählt heute das Glyphosat **8**, welches den Shikimisäureweg und somit die Synthese aromatischer Aminosäuren inhibiert (Abbildung 2).

1.1.3 Insektizide^[10]

Die dritte Klasse der Pflanzenschutzmittel sind die Insektizide. Diese Wirkstoffe zeichnen sich durch ihre abtötende Wirkung gegenüber Schadinsekten aus.

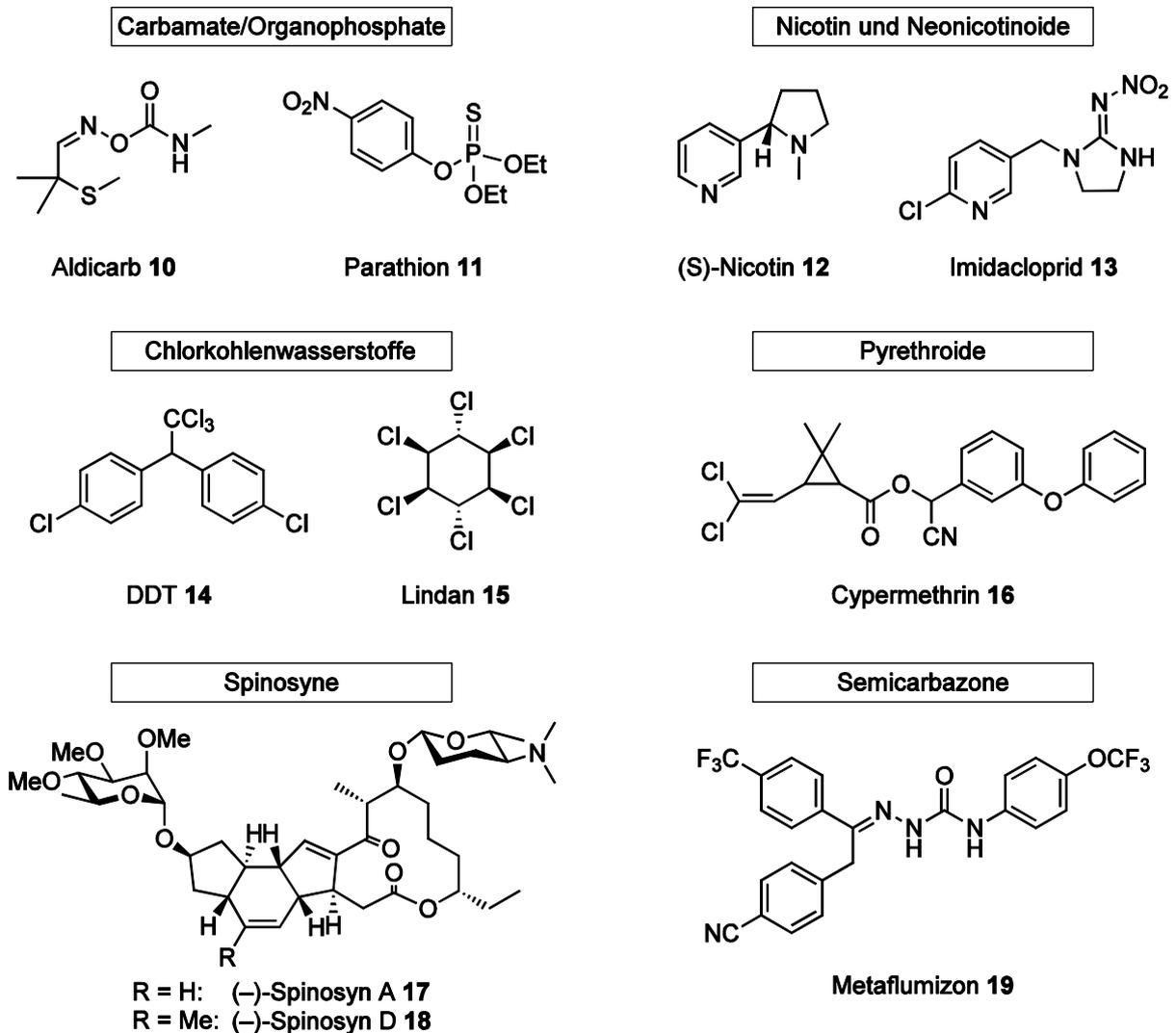


Abbildung 3: Beispiele für Insektizide

Viele der früher eingesetzten Insektizide gehören heute zu den POPs (Persistent Organic Pollutants; langlebige organische Schadstoffe) und sind nach der Stockholmer Konvention seit 2001 verboten. Das wahrscheinlich prominenteste Beispiel für ein POP ist das DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan) **14**. Dieses bis in die 70er Jahre gebräuchliche Insektizid reichert sich in der Nahrungskette an, indem es sich im Fettgewebe einlagert. Da es in Verdacht steht kanzerogen^[11] zu sein, wurde es, wie auch Lindan **15**, auf die Liste der POPs gesetzt (Abbildung 3).

**Tabelle 1:** Einteilung der Insektizide nach ihrem Wirkmechanismus

Inhibition der Acetylcholin-Esterase	Carbamate	Aldicarb 10
	Organophosphate	Parathion 11
Agonisten bzw. Modulatoren der Acetylcholin-Rezeptoren	Nicotin/Neonicotinoide	(S)-(-)-Nicotin 12 , Imidacloprid 13
	Spinosyne	Spinosad
Natriumkanal-Modulatoren	Pyrethroide	Cypermethrin 16
	Semicarbazone	Metaflumizon 19
Chloridkanal-Modulatoren	Phenylpyrazole	Fipronil
	Avermectine	Abamectin 23 , Ivermectin 25
Inhibition der mitochondrialen Atmungskette und der oxidativen Phosphorylierung	Akarizide (Komplex I Inhibitoren)	Pyrimidifen
	Pyrrrole (mitochondriale Entkoppler)	Chlorfenapyr
	Thioharnstoffe (Inhibitoren ATP-Synthase)	Diafenthiuron
Juvenilhormon Mimetikum	Bisacylhydrazine	Tebufenozid,
Inhibition der Chitin Synthese	Benzoylphenyl-Harnstoffe	Chlorfluazuron, Triflumuron

Die Klassifizierung der Insektizide erfolgt nach ihrem Wirkmechanismus (Tabelle 1). Etwa 80% der Insektizide sind Neurotoxine und nur etwa 20% beeinflussen die Entwicklung des Schadorganismus.

1.2 Naturstoffe und deren Analoga als Pflanzenschutzmittel

Einige der Wirkstoffe, die heute im modernen, integrierten Pflanzenschutz angewendet werden, sind natürlichen Ursprungs. Folglich handelt es sich um Metabolite von Bakterien, Pilzen oder Pflanzen. Im Gegensatz zu den synthetischen Pestiziden, besitzen die meisten Naturstoffe sehr komplexe Strukturen (Abbildung 4) mit vielen Stereozentren, so dass diese durch Fermentation oder Extraktion gewonnen werden müssen (Tabelle 2).

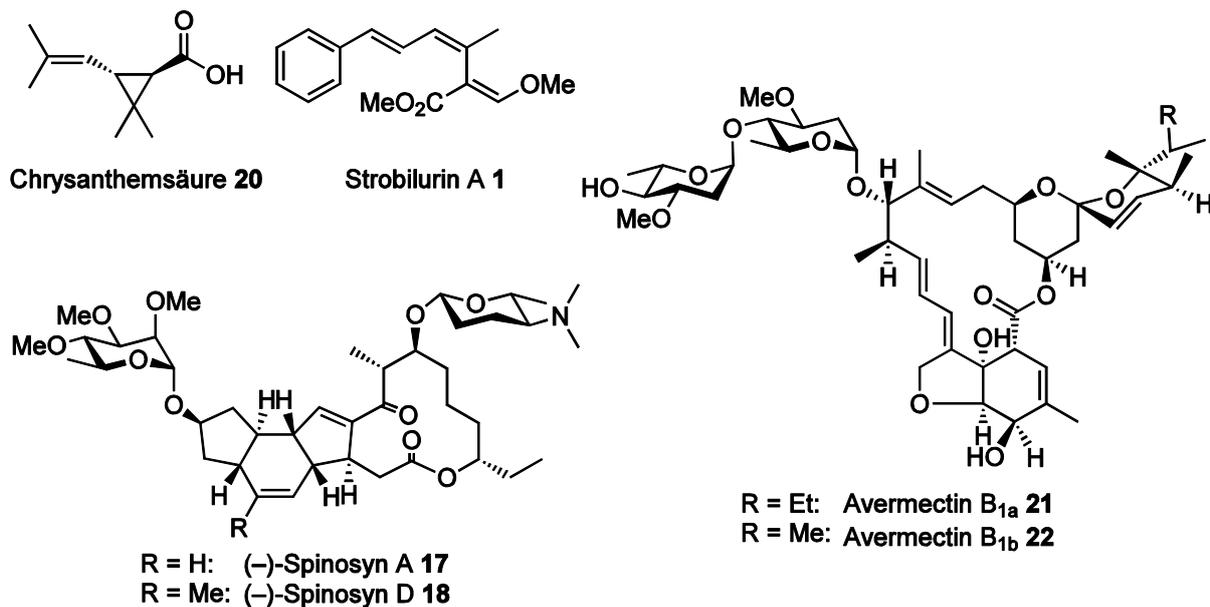


Abbildung 4: Pflanzenschutzmittel natürlichen Ursprungs

Nicht selten dienen diese Naturstoffe als Templat für Derivate, die ebenfalls im Pflanzenschutz angewendet werden und ein verbessertes Wirkprofil aufweisen. Dazu gehören zum Beispiel die Ester der Chrysanthemsäure **20**, welche zum Teil natürlichen Ursprungs sind und unter der Bezeichnung Pyrethroide zusammengefasst werden. Pyrethroide sind starke Kontaktgifte und werden als Insektizide eingesetzt^[12]. Jedoch gibt es erhebliche Probleme mit Resistenzentwicklungen^[13].

Eine weitere wichtige Naturstoffklasse sind die bereits erwähnten Strobilurine (vgl. Kap. 1.1.1). Strobilurin A **1**, welches aus dem Kiefernzapfenrüssling *Strobilurus tenacellus* isoliert wurde^[14], neigt aufgrund des Triensystems zu schnellem Abbau unter *in vivo* Bedingungen. Der Naturstoff wurde hingegen als Vorlage für die Synthese von Analoga benutzt. Pyraclostrobin (F 500), welches unter dem Namen

Signum® vertrieben wird, ist heute eines der kommerziell erfolgreichsten Fungizide^[15].

Tabelle 2: Beispiele für Naturstoffe im Pflanzenschutz

Abamectin	Fermentation von <i>Streptomyces avermitilis</i>	Insektizid
Bilanafos	Fermentation von <i>Streptomyces hagroscopius</i>	Herbizid
Blasticidin-S	Fermentation von <i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Fungizid
Kasugamycin	Fermentation von <i>Streptomyces kasugaensis</i>	Fungizid
Mildiomycin	Fermentation von <i>Streptoverticillium rimofaciens</i>	Fungizid
Pyrethrum	Extraktion von Chrysanthemum-Blüten	Insektizid
Rotenon	Extraktion von Derris Wurzeln	Insektizid
Spinosad	Fermentation von <i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Insektizid

Weitaus komplexere Wirkstoffe sind die Avermectine. Das durch Fermentation gewonnene Abamectin, eine 80:20 Mischung von Avermectin B_{1a} **21** und Avermectin B_{1b} **22**, wird von Syngenta unter dem Handelsnamen Agri-Mek® vertrieben. Es zeichnet sich durch seine Wirkung gegenüber Milben und saugenden Insekten aus und kann nahezu auf jeder Kulturpflanze angewendet werden. Wegen seiner extrem hohen Bientoxizität darf es jedoch nicht während der Blütezeit auf das Feld aufgebracht werden.

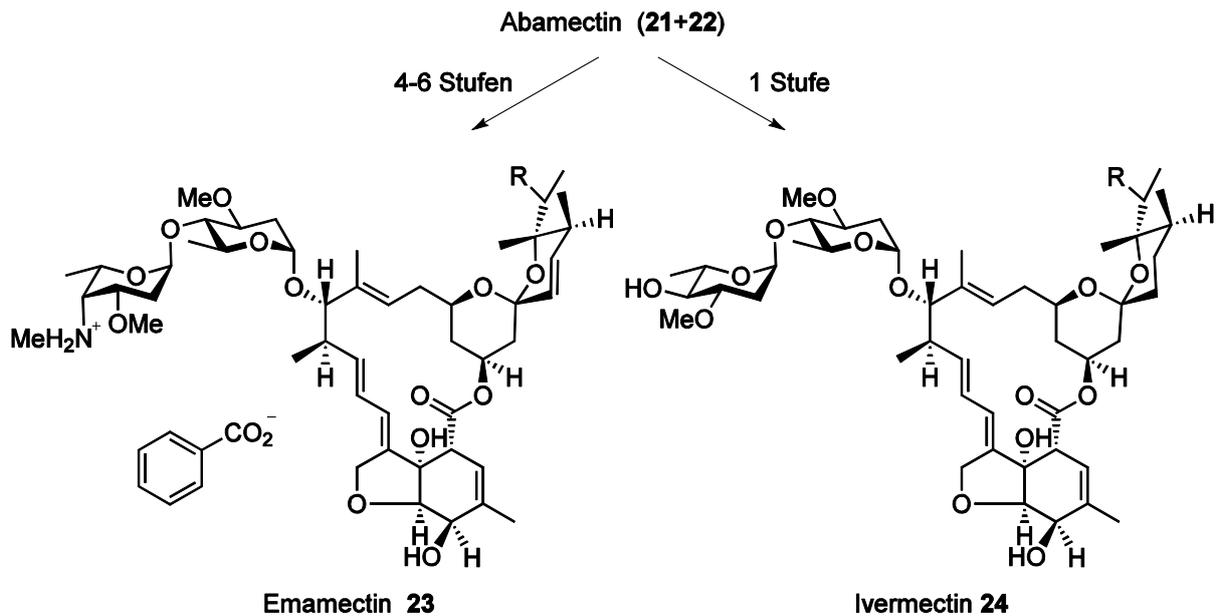


Abbildung 5: Derivate des Abamectins **21 + 22**: Emamectin **23** und Ivermectin **24**

Ferner dient das Abamectin als Substrat für die Herstellung von Ivermectin **24** und Emamectin **23** (Abbildung 5). Ivermectin **24** wird mittels selektiver Hydrierung in Gegenwart des Wilkinson-Katalysators $[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$ am Dihydropyranring in einer Stufe hergestellt. Emamectin **23** wird durch Modifikation an der endständigen L-Oleandrose dargestellt. In einer 4-6 stufigen Synthesesequenz wird die L-Oleandrose in ihr 4-*epi*-(Methylamino)-isomer überführt^[16].

Ebenfalls zu den natürlichen Pestiziden mit komplexen Strukturen zählen die Spinosyne, welche im folgenden Abschnitt detailliert behandelt werden sollen.

1.3 Naturstoffklasse der Spinosyne^[17]

1.3.1 Strukturmerkmale der Naturstoffklasse der Spinosyne

Spinosyne sind Metaboliten des Actinomyceten *Saccharopolyspora spinosa*, welcher aus einer, auf dem Gelände einer stillgelegten Rumdestille entnommenen, Bodenprobe isoliert wurde^[18]. Durch Fermentation konnten aus diesem Stamm die Metaboliten Spinosyn A **17** und D **18** (Abbildung 6) in einem Verhältnis von 85:15 gewonnen werden.

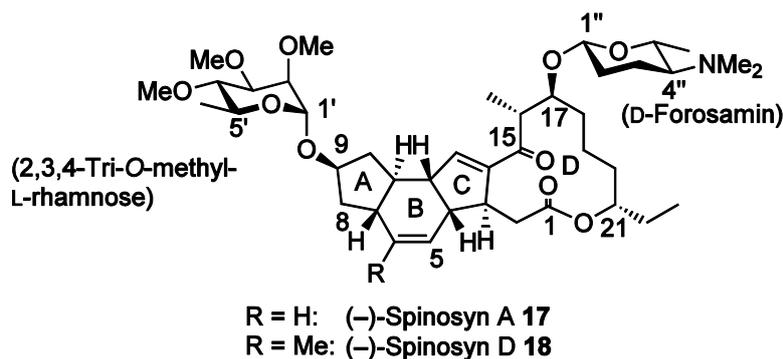


Abbildung 6: Natürliche Spinosyne: Spinosyn A **17** und D **18**

Spinosyne besitzen ein tetracyclisches Grundgerüst, welches zumeist mit zwei Sacchariden, der 2,3,4-tri-*O*-methylierten L-Rhamnose und dem D-Forosamin, verknüpft ist. Das Grundgerüst lässt sich in ein 12-gliedriges Macrolacton und in eine anellierte *cis-anti-trans*-verknüpfte Octahydro-*as*-indaceneinheit unterteilen. Das Spinosyn A **17** weist insgesamt 17 Stereozentren auf. Neun Stereozentren finden sich allein im tetracyclischen Grundgerüst.

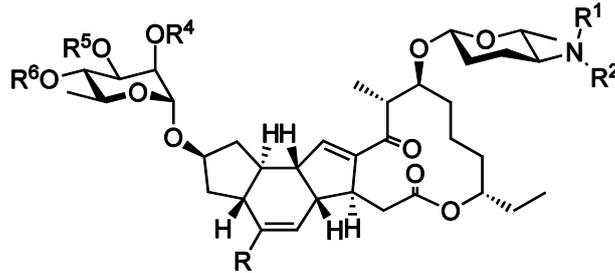
Das sogenannte Spinosad, einer Wortschöpfung aus Spinosyn A **17** und D **18**, spielt heute im integrierten Pflanzenschutz eine bedeutende Rolle. Seit 1997 ist Spinosad unter verschiedenen Markennamen wie zum Beispiel Conserve[®], GF-120[®] NF Naturalyte[®] und Entrust[®] erhältlich. Seit 2011 ist Spinosad auch in Natroba[™], einem Mittel gegen Kopfläuse, in den USA zugelassen. Ferner sicherte sich Eli Lilly 2010 die Patentrechte an der Verwendung von Spinosad zur Verbesserung der Wundheilung^[19].

Bis heute sind mehr als 20 unterschiedliche Spinosyne aus *Saccharopolyspora spinosa* isoliert worden, welche sich hauptsächlich in dem Substitutionsmuster, speziell der



O- und N-Methylierung, an den beiden Saccharid-einheiten unterscheiden. Dem Spinosyn B fehlt zum Beispiel die Verknüpfung zu dem D-Forosamin, während bei dem Spinosyn G das D-Forosamin durch das L-Ossamin ersetzt ist. Einen Überblick über die wichtigsten Vertreter der Spinosyne und deren Substitutionsmuster liefert Tabelle 3.

Tabelle 3: Substitutionsmuster verschiedener isolierter Spinosyne



A 17	Me	Me	H	Me	Me	Me
B	-	-	H	Me	Me	Me
D 18	Me	Me	Me	Me	Me	Me
H	Me	Me	H	H	Me	Me
J	Me	Me	H	Me	H	Me
K	Me	Me	H	Me	Me	H
L	Me	Me	Me	Me	H	Me

Ferner wurden mehr als 30 weitere Spinosyne aus dem Stamm *Saccharopolyspora pogona* gewonnen, die als Pogonine bezeichnet werden. Diese tragen zumeist an der C-21-Position, statt der im Spinosyn vorhandenen Ethylgruppe, eine Butenylgruppe^[20].

1.3.2 Eigenschaften

Spinosad eignet sich aufgrund seiner selektiven Wirkung auf Schadinsekten und der guten Umweltverträglichkeit zur Anwendung im integrierten Pflanzenschutz. So zeigen verschiedene Studien, dass Spinosad schnell durch Photolyse abgebaut wird. Eine Untersuchung zur Photolyse von Spinosyn A **17** und D **18** ergab eine Halbwertszeit von 1.1 bzw. 1.0 h in Flusswasser und in demineralisiertem Wasser von 2.2 bzw. 2.0 h bei einer Einstrahlung von 300 nm. Die Photolyse ist ebenfalls vom pH-Wert des Mediums abhängig. Im sauren Medium (pH = 6.0) beträgt die Halbwertszeit im Phosphatpuffer $t_{1/2} = 2.32$ h, während sie unter gleichen Bedingungen bei pH = 8.0 nur noch $t_{1/2} = 0.71$ h beträgt²¹. Die schlechte Wasserlöslichkeit des Spinosads sorgt außerdem dafür, dass das Insektizid in den oberen Bodenschichten verbleibt, wo es zusätzlich schnell durch Bodenorganismen abgebaut wird. Die Kontamination des Grundwassers und somit auch der Eintrag in die Flüsse sind deshalb gering.

1.3.3 Toxizität^[22]

Spinosyne unterscheiden sich aufgrund ihrer selektiven Wirkung auf Zielorganismen (Tabelle 4) erheblich von bisher bekannten Insektiziden. Ferner sind die Ausbringungsmengen im Vergleich zu anderen Insektiziden geringer.

Tabelle 4: Beispiele für Schadinsekten und deren lat. Bezeichnung

Baumwollkapselbohrer	<i>Helicoverpa zea</i>
Kohlmotte	<i>Plutella xylostella</i>
Maiszünsler	<i>Ostrinia nubilalis</i>
Tomatenschwärmer	<i>Manduca quinquemaculata</i>
Amerikanische Tabakeule	<i>Heliothis virescens</i>

Während die Mortalität der Schadinsekten wie zum Beispiel dem Maiszünsler, dem Tomatenschwärmer und andern bei 100% liegt, ist Spinosad für Säugetiere, Fische, Vögel nur gering toxisch oder sogar untoxisch (Tabelle 5).

Tabelle 5: Toxizitäten von Spinosad gegenüber ausgewählten Lebewesen^[23]

Ratte männl. (weibl.)	oral	LD ₅₀ = 3738 mg/kg (>5000 mg/kg) Körpergewicht	Nicht toxisch
Ratte	pneumonal	LD ₅₀ >5 mg/L Luft	Nicht toxisch
Kaninchen	dermal	LD ₅₀ >5000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch
Karpfen	innerhalb 96 h akut letale Konzentration (im Wasser)	5.0 mg/L Wasser	Mäßig toxisch
Stockente	oral	LD ₅₀ >2000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch

Ebenfalls von essentieller Bedeutung ist bei Insektiziden die Toxizität der Verbindung gegenüber Nutzinsekten. Die Bientoxizität spielt bei der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln eine erhebliche Rolle, weil mit der Biene und auch der Hummel ein bestäubender Nützling wegfällt. Nachgewiesen ist heute, dass die Neonicotinoide für das als Colony Collapse Disorder (CCD) bekannt gewordene Phänomen des Bienensterbens verantwortlich sind^[24]. Die Einteilung der Bientoxizität wird in vier Kategorien eingeteilt: B4 (nicht bienengefährlich), B3 (nicht bienengefährlich aufgrund von Auflagen in Bezug auf die Anwendung), B2 (bienengefährlich; aber Anwendung nach dem Ende des täglichen Bienenflugs (23.00 Uhr) möglich) und B1 (bienengefährlich)^[25]. Spinosad ist unter Laborbedingungen akut toxisch für Bienen. Feldstudien zeigten jedoch, dass Spinosad bei sachgemäßen Gebrauch eine sehr geringe Bedrohung für die Bienen darstellt^[26].

1.3.4 Wirkmechanismus

Spinosyne zeichnen sich durch einen neuartigen Wirkmechanismus aus. Bei Kontamination des Insektes kommt es zum Tremor, unkontrollierten Muskelkontraktionen, Hyperventilation bis hin zur vollständigen und irreversiblen Lähmung des Insektes.



Die bekannten Bindungsstellen für Insektizide sind der Na⁺-Kanal, die Acetylcholinesterase, der NACH- und der GABA-Rezeptor (Tabelle 6). Ursprünglich wurde angenommen, dass das Spinosyn mit dem GABA (γ -Aminobuttersäure)-Rezeptor und dem NACH (Nicotinacetylcholin)-Rezeptor wechselwirkt^[27]. Neueste Studien zeigen jedoch, dass keine Wechselwirkungen mit den bekannten insektiziden Bindungsstellen vorliegen.

Tabelle 6: Studien zur Bindungsstelle von Spinosad

NACH-Rezeptor	[³ H] α -BGT	<i>M. domestica</i> <i>P. americana</i>	kein signifikanter Austausch	100 μ M (-)-Nicotin
	[³ H]IMI	<i>M. domestica</i>	kein signifikanter Austausch	100 μ M (-)-Nicotin
	[³ H]MLA	<i>M. domestica</i> <i>P. americana</i>	kein signifikanter Austausch	100 μ M (-)-Nicotin
	[³ H]EPI	<i>P. americana</i>	kein signifikanter Austausch	10 μ M (+)-Epibatidin
MACH-Rezeptor	[³ H]QNB	<i>M. domestica</i>	kein signifikanter Austausch	10 μ M Atropin
GABA-Rezeptor	[³ H]EBO B	<i>M. domestica</i>	kein signifikanter Austausch	10 μ M picotoxirin
Glutamat-Rezeptor	[³ H]IVM	<i>M. domestica</i>	kein signifikanter Austausch	1 μ M Avermectin
Spannungsgeöffneter Ca ²⁺ -Kanal	[³ H]VPM	<i>M. domestica</i>	70 \pm 25% Austausch	10 μ M Methoxyverapamil

Untersucht wurden in dieser Studie von Crouse *et al.*^[27] eine mögliche Wechselwirkung zwischen dem Nicotinacetylcholin-Rezeptor, dem Muscarinacetylcholin (MACH)-Rezeptor, dem GABA-Rezeptor, dem Glutamat-Rezeptor und dem Spannungs-abhängigen Calcium Kanal durch Tritium-basierte Austauschexperimente. Außer mit dem Spannungs-abhängigen Calcium Kanal ergab sich bei keinem der

Experimente eine Wechselwirkung der bekannten insektiziden Bindungsstellen mit dem Spinosad (Tabelle 6).

Diese Ergebnisse werden durch das Ausbleiben einer Wirkung von Spinosad gegenüber einem *Dα6* knockout Stamm von *Drosophila melanogaster* gestützt. Auch die Bindungsstelle von Imidacloprid oder von den Avermectinen wird durch Spinosyn A nicht adressiert. Das Fehlen dieser Interaktionen unterstützt die Hypothese, dass es sich wirklich um einen neuartigen Wirkmechanismus handelt. Es besteht ferner noch die Möglichkeit, dass der GABA- und der NACH-Rezeptor durch Spinosyne moduliert werden^[28]. Aufgrund der Aktivierung der *nicotinic currents*, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass es sich bei der Bindungsstelle von Spinosad um einen bisher noch unbekanntem Subtyp des NACH-Rezeptors handeln muss^[29, 30].