

ce cyclohexan et chloroform (d'abord 3+1 part de vol. puis 2+1 part de vol.).

Tout les alkaloides qui sont toxicologiquement important et les médicaments alcalins sauf morphine peuvent être élué. L'éluion de morphine se fait avec du chloroform pur.

Pour indiquer les étoffes alcalins dans les fractions il y a une possibilité d'analyse de façon de chromatographie sur couches minces qui a été développé sous la collaboration de P. NOACK. Cette séparation est fondé sur la comparaison des résultats de Rf qui sont corrigé et qui sont gagné par les systèmes suivants:

- I Couche de  $Al_2O_3$ , chloroform-aceton-acid formique (16:4:1)
- II Couche de  $Al_2O_3$ , heptan-aceton-chloroform-isopropylamine (12:3:1,4:0,6)
- III Couche de gel de silice, cyclohexan-diéthylamine (9:1)
- IV Couche de gel de silice, methanol-chloroform-dimethylformamide (80:15:10)

Il faut absolument révéler en même temps des témoins qui servent comme correction des résultats de Rf. Par principe on attire aussi pour fixer les résultats la technique de chromatographie sur papier.

On parlera plus détaillé de ces méthodes à autre place.

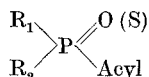
Professor Dr. E. VIDIC  
 Institut für gerichtliche und soziale Medizin  
 der Freien Universität Berlin  
 Berlin 33, Hittorfstraße 18

**M. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT (Erlangen-Nürnberg): Der Nachweis der insecticiden Thiophosphorsäureester mit schwefelhaltigen Acyl-Resten\*.**

Unter den Insecticiden nehmen die organischen Phosphorsäureester einen bedeutenden Platz ein. Schon 1937 stellten SCHRADER und KÜKENTHAL ein allgemeines Schema auf, nach dem ein organisches Phosphorsäure-Insecticid aufgebaut sein muß. Dies wurde 1950 von SCHRADER vervollständigt und besagt: Es ist mit einem biologisch aktiven Phosphorsäureester zu rechnen, wenn an fünfwertigen Phosphor Schwefel oder Sauerstoff direkt gebunden ist. Zwei Valenzen des Phosphors müssen außerdem mit Alkoxygruppen, Alkylgruppen oder Resten von Aminen (R1 und R2) besetzt sein, während eine weitere Valenz an

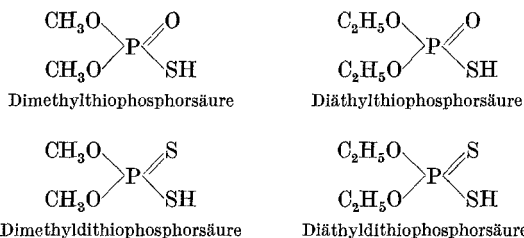
\* Die eigenen experimentellen Arbeiten wurden mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen.

den Rest einer anorganischen oder organischen Säure, z. B. Fluor, oder einen aciden Rest, wie z. B. ein Mercaptan gebunden ist (Acylrest).



Schema für einen biologisch aktiven Phosphorsäureester nach SCHRADER und KÜKENTHAL

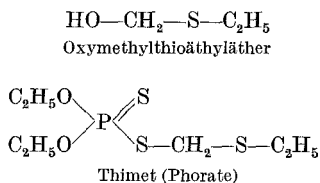
Nach diesem Modell sind heute die meisten im Handel anzutreffenden insecticiden Phosphorsäureester aufgebaut. Hierzu gehören zahlreiche Ester der Dialkylthio- und Dithiophosphorsäuren:



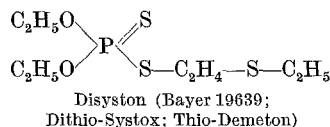
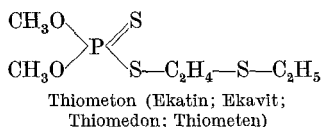
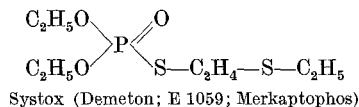
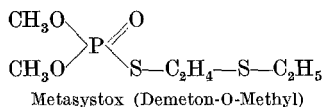
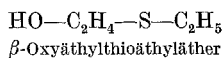
Bei einer Reihe der wirksamen Verbindungen enthält auch der Acylrest ein Schwefelatom. Am besten untersucht sind hiervon diejenigen Wirkstoffe, bei denen der Schwefel im Acylrest in *Thioätherbindung*-C-S-C- steht. Dies führt dazu, daß sie bei den ersten Stoffwechselschritten in ähnlicher Weise verändert werden. Soweit bisher bekannt ist, erfolgt dort die Umwandlung in Sulfoxyde und Sulfone sowie durch Entschwefelung am Phosphor in die Phosphorsäureester-Analogen (FUKUTO, METCALF, MARCH und MAXON; MARCH, METCALF, FUKUTO und MAXON; METCALF, MARCH, FUKUTO und MAXON; FUKUTO, WOLFE, METCALF und MARCH; MÜHLMANN und TIETZ; METCALF, FUKUTO und MARCH; JUCKER; BOWMANN und CASIDA; NIESSEN, TIETZ und FREHSE; COFFIN). Damit ergibt sich eine ganze Reihe verwandter Probleme für den Nachweis.

Bei den Wirkstoffen handelt es sich um Ester der Dialkylthio- sowie Dithiophosphorsäuren, die mit den folgenden 5 Verbindungen verestert sind:

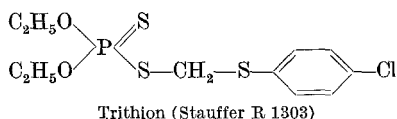
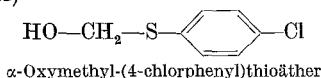
Oxymethylthioäthyläther: *Thimet*



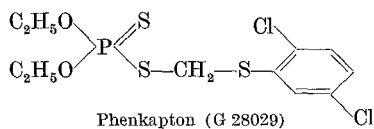
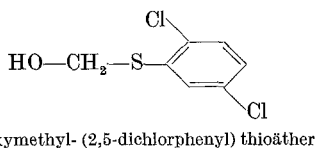
$\beta$ -Oxyäthylthioäthyläther: *Metasystox*, *Systox*, *Thiometon*, *Disyston*  
(Systox-Gruppe)



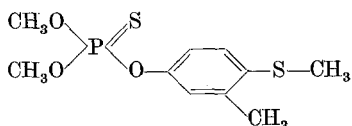
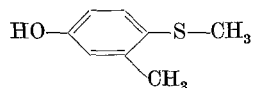
$\alpha$ -Oxymethyl-(4-chlorphenyl)-thioäther: *Trithion* (auch ein Methyl-  
Trithion ist im Handel)



$\alpha$ -Oxymethyl-(2,5-dichlorphenyl)-thioäther: *Phenkapton*



4-Methylmercapto-3-methylphenol: *Lebaycid*



Auf die z. T. komplizierten Isomerieverhältnisse möchte ich hier nicht eingehen, sondern den Überlegungen jeweils die stabilste Hauptkomponente zugrunde legen.

Alle Verbindungen sind als Alkylphosphate durch Blockierung des Enzyms Acetylcholinesterase und anderer Cholinesterasen schwere Gifte (ERDMANN und LENDLE; SCHRADER 1963).

Über die *Giftigkeit* der einzelnen Verbindungen orientiert die folgende Tabelle, die die Werte für Ratten bei oraler Gabe wiedergibt (SCHRADER 1963).

LD 50 für Ratten bei oraler Gabe	
Thimet	1—2 mg/kg
Metasystox (Thioform)	40—60 mg/kg
Systox (Thioform)	1,5 mg/kg
Thiometon	85—120 mg/kg
Disyston ♂	12,5 mg/kg
Disyston ♀	2,6 mg/kg
Trithion ♂	30,0 mg/kg
Trithion ♀	10,0 mg/kg
Phenkapton	200—260 mg/kg
Lebaycid	215—245 mg/kg

Dabei ist zu beachten, daß für die Wirkung mehrerer der genannten Thiophosphorsäureester ein erheblicher Geschlechtsunterschied zu bestehen scheint. Zur richtigen Beurteilung der Giftwirkung von Alkylphosphaten ist die Möglichkeit einer „Potenzierung“ zu berücksichtigen, die z. B. für Lebaycid in Kombination mit Malathion, Coral und Delnav festgestellt wurde (DUBOIS und KINOSHITA). Ein antagonistischer Effekt wurde für Systox und Guthion beschrieben (DUBOIS 1958, 1961). Weiter muß auch an die Möglichkeit der Kumulierung gedacht werden, worauf HECHT und WIRTH sowie PRIBILLA hingewiesen haben. Diese ist besonders beim Lebaycid relativ groß (DUBOIS und KINOSHITA).

In Deutschland sind im Pflanzenschutzmittelverzeichnis 1964 der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig Metasystox-i, Disyston und Phenkapton als Schädlingsbekämpfungsmittel aufgeführt. Sie stehen damit einem weiten Bevölkerungskreis zur Verfügung. Systox und Metasystox sind in Deutschland zwar nicht mehr im Handel erhältlich, doch finden sich gerade auf dem Lande noch alte Bestände, die jahrelang aufbewahrt werden. In anderen Ländern sind z. T. andere der genannten Verbindungen im Gebrauch.

Wenn auch bei sachgemäßer Anwendung (Schutzkleidung, Beachtung der Windverhältnisse usw.) keine Vergiftungen zu erwarten sind, wie PFAFF und auch KLIMMER und PFAFF feststellten, so sind doch durch Verwechslung mit Medikamenten sowie in suicidalen Absicht entstandene schwere, oft tödliche Vergiftungen vorgekommen. In vielen derartigen Fällen wird eine gerichtsmedizinische Klärung der Todesursache verlangt,

zumal wenn der Verdacht einer kriminellen Giftbeibringung besteht. In der Literatur finden sich Angaben über mehrere Vergiftungen, zum Teil tödliche, mit *Systox* — die erste wurde 1953 von KAISER beschrieben — (KAISER; BÜCH und FLORANGE; NAEVE; VÖLKSEN; REINL; MACHATA; MARESC; J. SCHMIDT) und *Metasystox* (FISCHER und KLINGELHÖLLER). Auch wir konnten neben einer tödlichen *Metasystox*- (WEINIG, LAUTENBACH und GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) und *Systox*vergiftung (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) neuerdings eine nicht tödliche Vergiftung mit *Lebaycid* zusammen mit v. CLARMANN, (v. CLARMANN und GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) beobachten.

Faßt man die in den genannten Untersuchungen erhobenen Befunde zusammen, so ergeben sich die folgenden *klinischen Symptome*, die besonders für die *Systox*vergiftung beschrieben wurden: Kopfschmerzen, Schwindel, Schwäche, Cyanose, Miosis, Schweißausbruch, Erschwerung des Sprechens, Sehstörungen, Übelkeit, Erbrechen, Leibschmerzen, Durchfall, fibrilläre Muskelzuckungen, tonisch-klonische Muskelkrämpfe, Gangstörungen, Extremitätenschwäche, Rigidität der Muskeln besonders an den Beinen, Herzschmerzen, Atembeschwerden, Lungenödem, epileptiforme Krämpfe. Als unmittelbare Todesursache wird allgemein der Atemstillstand (O'BRIEN) angesehen.

Die Zeitspanne zwischen Giftaufnahme und Auftreten der ersten Symptome hängt von vielen Faktoren ab, neben der Natur des Giftes von Applikationsart, Menge, Magenfüllung usw.

Das *pathologisch-anatomische Bild* der Alkylphosphatvergiftung ist nicht absolut typisch. Charakteristisch sind nach MARESC für die *Systox*vergiftung in vielen Fällen das Lungenödem, die auffallend dunklen blauroten bis blaugrünen Totenflecken (Gefäßerweiterung durch Acetylcholin) und die oft in Streckstellung bei exzessiver Totenstarre fixierten Füße mit hakenförmiger Dorsalflexion der großen Zehe.

Die Krankheitssymptome, die pathologisch-anatomischen Befunde und auch das Ergebnis der histologischen Untersuchung sind bei den Thiophosphorsäureester-Vergiftungen also relativ uncharakteristisch.

Für die Diagnose einer Alkylphosphat-Vergiftung sind ferner wesentlich die Messung der *Cholinesteraseaktivität in Serum*, Vollblut und Organen, u. U. auch histochemische Untersuchungen.

Die diagnostische Verwendung der Cholinesteraseaktivitäts-Messung im Serum ist, worauf schon FRIEDBERG und SACKAI hinwiesen, in der Praxis durch mehrere Faktoren beschränkt. Einmal ist die Streuung der normalen Aktivität für die Cholinesterasen, ganz besonders die Pseudocholinesterasen des Serums, erheblich. Dies mag z. T. daran liegen, daß es — erblich bedingt — Personen mit normaler und gegenüber der Norm geringfügig verminderter Serumcholinesteraseaktivität neben homozygoten Trägern atypischer Cholinesterasen gibt, deren Aktivitäts-

werte außerordentlich niedrig liegen (KALOW), daneben sogar Fälle von erheblich bedingter Cholinesteraseaktivität mit einem Wert von praktisch 0 (LIDELL, LEHMANN und SILK; WOOLF, SIMPSON und KALOW). Außerdem ist bei vielen sonstigen Erkrankungen die Aktivität der Serumcholinesterase unter die Norm herabgedrückt, bei anderen dagegen wieder erheblich gesteigert (STEFANELLI; PIETSCHMANN; SCHILF). Auch Pharmaka können einen Einfluß auf die Werte haben (AUGUSTINSSON). FRIEDBERG und SACKAI empfehlen daher, nach Messung der Hemmung einer Reaktivierung mit PAM durchzuführen, das eine Blockierung der Esterasen durch andere Pharmaka, wie z. B. Physostyginin, in keiner Weise beeinflußt. Eine Fermenthemmung, die durch PAM reversibel beeinflußt werden könne, spreche einwandfrei für eine Vergiftung durch Alkylphosphat. Nicht erfaßbar sind allerdings z. B. DFP und Ompa, weil hier sehr bald keine Reaktivierung mehr möglich ist.

Durch diese Untersuchung kann bei positivem Ausfall schon ein allgemeiner Hinweis auf eine Vergiftung durch Alkylphosphat gewonnen werden. Zur Sicherung und Differenzierung muß aber dann der biologische, chemische und physikalische Nachweis des Giftes oder seiner Abbauprodukte im Mageninhalt, den Körperflüssigkeiten oder den Organen hinzukommen.

Voraussetzung hierfür ist zunächst eine zweckmäßige Aufbewahrung und Aufarbeitung. Die *Aufbewahrung des Untersuchungsmaterials* erfolgt nach den Erfahrungen der Rückstandsanalyse (FRESHSE und NIESSEN) am besten durch Lagerung bei  $-15$  bis  $-20^{\circ}\text{C}$ . Bei Kühlschranktemperatur und erst recht bei Zimmertemperatur sind durch Fermenttätigkeit und Einwirkung von Bakterien (AHMED, CASIDA und NICHOLS; GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) Veränderungen der Moleküle zu befürchten.

Die meisten für den Nachweis angegebenen Verfahren erfordern, falls nicht ein Originalpräparat vorliegt, die Anreicherung der Wirkstoffe und eine gewisse Vorreinigung. Praktisch immer wird vorherige Mazeration verlangt (FRESHSE und NIESSEN).

Als Methoden zur *Isolierung* und *Reinigung* kommen Extraktionsverfahren sowie die Wasserdampfdestillation in Frage. Für die *Extraktion* (FRESHSE und NIESSEN; GUNTHER und BLINN; HEATH; CHILWELL und HARTLEY) werden zwei unterschiedliche Wege vorgeschlagen:

1. Extraktion durch mit Wasser nicht mischbare Lösungsmittel (LAWS und WEBLEY). Dies empfiehlt sich jedoch wegen Emulsionsbildung weniger, als

2. die Extraktion durch mit Wasser mischbare Lösungsmittel. Besonders geeignet erscheinen hierfür Aceton oder Methanol.

Höhere Temperaturen sollten bei der Extraktion nicht ohne vorherige Prüfung auf Unschädlichkeit angewandt werden (CHILWELL und HARTLEY).

Andere Autoren empfehlen vor Durchführung eines Nachweisverfahrens die *Wasserdampfdestillation*, die sich bei der Isolierung von Parathion aus Mageninhalt und anderem Material bewährt hatte (DERKOSCH, JANSCH, LEUTNER und MAYER; SCHMIDT, G.; MACHATA). Die einzelnen genannten Thioäther-Derivate sind unterschiedlich flüchtig. Bei Anwendung von Reinsubstanz oder Originalpräparat gelingt es in der Systoxgruppe (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) und beim Lebaycid (IRUDAYASAMY und NATARAJAN) weitgehend, den Wirkstoff in annehmbarer Zeit überzutreiben. Dies ist jedoch nicht mehr der Fall, wenn man von fetthaltigem Material, wie z. B. Mageninhalt ausgeht, wobei ein erheblicher Anteil im Destillationsrückstand verbleibt (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT). — Bei der Wasserdampfdestillation von Systox und Metasystox wurde die Abspaltung von  $\beta$ -Mercaptoäthylthioäthyläther beobachtet, deshalb sind u. U. sehr kleine Mengen infolge Zersetzung auf diesem Weg nicht zu isolieren (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT).

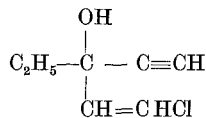
Es ist nicht möglich, mit Hilfe der Wasserdampfdestillation den Wirkstoff völlig rein zu erhalten, denn mit dem Wasserdampf können andere flüchtige, auch schwefel- und phosphorhaltige Substanzen mit übergehen, worauf DERKOSCH, G. SCHMIDT, MACHATA sowie FISCHER und SPECHT hingewiesen haben. Die schwefelhaltigen Verbindungen können aus faulenden Organen (LORKE und O. SCHMIDT) und gekochtem Fleisch (RUBNER; KRAMLICH und PEARSON) aber auch aus pflanzlichem Material (RUBNER; BURCHFIELD und STORRS) stammen. Nicht vergessen sei, daß auch Lösungsvermittler von Pflanzenschutzmitteln in das Wasserdampfdestillat gelangen, wie z. B. Xylol aus alten Metasystoxpräparaten, die einen wertvollen kriminalistischen Hinweis geben können (WEINIG, LAUTENBACH und GELDMACHER-V. MALLINCKRODT).

In den eingeeengten Extrakten sind viele der im folgenden genannten Nachweisverfahren durchzuführen. Für spezielle Verfahren, wie z. B. die IR-Spektrophotometrie, oder die Bestimmung physikalischer Daten sind weitere Reinigungsschritte erforderlich.

Die *Reaktionen zum Nachweis* umfassen zunächst solche, die den ungespaltenen Wirkstoff erfassen. Hier sei an erster Stelle genannt der *biologische Test* (SUN; NEEDHAM; UNTERSTENHÖFER), den schon DOTZAUER und NAEVE 1955 bei „uncharakteristischen Sektionsbefunden“ empfohlen haben. Der biologische Test ist ähnlich wie die Messung der Cholinesterasehemmung eine unspezifische Methode zum Nachweis von Insecticidrückständen, besitzt jedoch außerordentlich hohe Empfindlichkeit, die meist ein bis zwei Zehnerpotenzen über derjenigen chemischer Verfahren liegt. Er baut auf der Feststellung der Todesrate, der Absterbegeschwindigkeit oder anderer physiologischer Antworten der Versuchstiere bzw. Mikroorganismen auf. In der Literatur ist eine Fülle von Testorganismen beschrieben worden, die eine zum Teil sehr unterschied-

liche Empfindlichkeit den einzelnen Wirkstoffen gegenüber besitzen. In unserem Institut haben wir zunächst mit der Stubenfliege *Musca domestica* gearbeitet, sind aber dann der außerordentlich einfachen Zuchtbedingungen (WEINMANN) wegen auf *Drosophila melanogaster* übergegangen.

Bei der Auswertung des Testes ist auf eine Reihe von Fehlermöglichkeiten zu achten. Zunächst können mitextrahierte Substanzen aus biologischem Material die Toxicität des Insecticids maskieren, falls dies in sehr geringer Menge vorliegt (SUN), sodann ist auch an die gelegentlich vorhandene Toxicität von Organextrakten zu denken, die bereits allein eine insecticide Wirkung entfalten können. Toxische Komponenten sind aus Leber, Gehirn und Niere (LAUG) nicht Vergifteter sowie auch aus zahlreichen pflanzlichen Teilen (FEINSTEIN und JACOBSON; NEGHERBON; SUN, PANKASKIE und SUN; HARTZELL; NOLAN und WILCOXON; TERRIERE und INGALSBE) gewonnen worden. Auch manche Medikamente haben starke Insecticidwirkung; wir konnten dies z. B. bei der Untersuchung von Mageninhalt bei einer Schlafmittelvergiftung für Roeridorm



Äthyl- $\beta$ -chlorvinyl-3-äthynyl-carbinol (Ethchlorvynol, Roeridorm, Placidyl, Arvynol)

feststellen. Weiter ist die Insecticidresistenz mancher Stämme zu beachten (O'BRIEN; KALOW; NEGHERBON; BROWN). Ein gewisser Nachteil des biologischen Testes ist seine mangelnde Spezifität, der Hauptvorteil jedoch, daß er ein sehr empfindliches Ausschlußverfahren für Insecticide darstellt.

Als weiteres biologisches Verfahren kann die *Messung der Cholinesterase-Hemmung in vitro* erfolgen. Danach ist bei positivem Ausfall des biologischen Testes, durch den alle Insecticide erfaßt werden, der Nachweis auf diejenigen einzuengen, die Hemmer der Cholinesterasen sind.

Für den genannten Zweck ist es ausreichend, mit den Pseudocholinesterasen des Serums zu arbeiten, falls es nicht von Trägern atypischer Esterasen stammt. Bei Anwendung des Verfahrens muß daran gedacht werden, daß viele Organophosphatinsecticide, vor allem die Thionophosphate, nur schwache Cholinesterasehemmer sind, und zuvor oxydiert werden müssen. Dies gilt auch für die meisten Vertreter der hier besprochenen Gruppe (FREHSE und NIESSEN; SCHRADER; ARCHER und ZWEIG). — Bei der Untersuchung von Extrakten z. B. aus Mageninhalt ist zu beachten, daß konzentrierte Pflanzenextrakte eine merkliche Hemmung auf die Serumcholinesterase ausüben können (ORGELL;



ORGELL, VAIDYA und DAHM; ROHDE; HARRIS und WHITTACKER; MENN, MCBAIN und DERMIS). Deshalb erscheint auch hier eine Reaktivierung durch PAM zweckmäßig.

FRIEDBERG und SACKAI arbeiteten mit der manometrischen Methode von AMMON, als Substrat diente Acetylcholin. Wir prüften (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT u. KAISER) einige andere Substrate und Verfahren, die eine schnellere Bestimmung ermöglichen sollten und fanden dabei, daß PAM als solches in der Lage ist, das in der Methode von MAIN, MILES und BRAID verwendete Substrat Orthonitrophenylbutyrat zu spalten. Bei Verwendung anderer Substrate als Acetylcholin, u. U. auch bei Verwendung anderer Reaktivatoren als PAM ist also Vorsicht geboten.

Eine sichere Identifizierung der Thiophosphorsäureester ist nur durch physikalische und chemische Verfahren möglich.

Die Ermittlung der *physikalischen Daten* der Wirkstoffe wie spezifisches Gewicht, Brechungsindex, Siedepunkt usw. dürfte meist an den geringen zur Verfügung stehenden Mengen und der ungenügenden Reinheit der aus biologischem Material isolierten Substanz sowie an dem häufigen Vorliegen in Isomeren-Gemischen scheitern.

GAJAN wandte 1962 die *Polarographie* zur Bestimmung von Systox, Disyston, Thimet und deren Oxydationsprodukten erfolgreich an. Durch Kombination mit der Papierchromatographie war er in der Lage, die Spezifität des Verfahrens noch zu steigern.

COULSON, CAVANAGH und STUART berichteten 1959 erstmals über den direkten *gaschromatographischen* Nachweis von Systox neben E 605 und Malathion, weitere Arbeiten folgten (BARRETTE und PAYFER; EGAN, HAMMOND und THOMSON). Das Verfahren der mikroculometrischen Gaschromatographie (COULSON, CAVANAGH und DE VRIES; BOSIN; NELSON) ist inzwischen für Insecticide weiter ausgearbeitet worden. Ein gewisser Nachteil gaschromatographischer Verfahren liegt in der oft mangelnden Spezifität. Die Identifizierung der einzelnen Peaks setzt Erfahrung, Vergleich mit Standard-Proben und oft zusätzliche Anwendung anderer Analysenverfahren voraus.

Der *Infrarot*-Spektralbereich ist bei Vorliegen in der erforderlichen Reinheit zur Identifizierung und quantitativen Bestimmung von Thiophosphorsäureestern, insbesondere nach Oxydation zu den Sulfoxyden und Sulfonen, sehr geeignet (FREHSE und NIESSEN; SCHRADER 1963; BLINN und GUNTHER; GUNTHER; FREHSE, NIESSEN und TIETZ; CORBETT; CROSBY und LAWS; YU-SHIIH-CHEN).

Die Aufstellung einer Absorptionskurve im *ultravioletten* Bereich kann als Nachweisverfahren für Thimet sowie die Systox-Gruppe nicht herangezogen werden, da sich bei den reinen Präparaten in diesem Bereich keine Absorptionsmaxima finden. Dagegen gibt es typische Ab-

sorptionskurven für Lebaycid (SCHRADER 1960) und Phenkapton (STAMMBACH, DELLEY, SUTER und SZEKELY), für Trithion sind sie zu erwarten.

Für den *papierchromatographischen* Nachweis sind eine große Anzahl von Laufmittelsystemen und Entwicklungsreagentien angegeben worden (FREHSE und NIESSEN; GETZ; BATORA). Sie alle erlauben eine schnelle Orientierung, besitzen jedoch allein für forensische Zwecke unzureichende Spezifität.

Sehr bewährt hat sich bei uns (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) die dünnschichtchromatographische Prüfung auf Thiophosphorsäureester nach BÄUMLER und RIPPSTEIN, besonders in Verbindung mit dem biologischen Test.

Die in der Literatur verschiedentlich erwähnten *Trübungs-* und *Farbreaktionen* der verschiedenen Thiophosphorsäureester mit Quecksilberjodid-jodkalium (VÖLKSEN), Goldchlorid (VÖLKSEN; GROSSKOPF), Nitroprussidnatrium (VÖLKSEN; SCHREIBER) und dem Reagens nach FOLIN-CIOCALTEU (VÖLKSEN) erwiesen sich bei der Prüfung (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT), wie zu erwarten, zwar häufig als empfindlich, aber sehr unspezifisch. Zahlreiche andere schwefelhaltige und auch nichtschwefelhaltige Medikamente und körpereigene Substanzen lieferten ähnliche Reaktionen.

Neben dem Nachweis des ganzen Moleküls kann die Erfassung der Molekülpaltstücke die Identifizierung weiter sichern. Der Nachweis von *Phosphor*, *Schwefel* und *Chlor* ist unspezifisch. Hiermit haben sich FREHSE und NIESSEN kritisch auseinandergesetzt. Sie machen darauf aufmerksam, daß z. B. pflanzliches Material einen relativ hohen Phosphorgehalt hat, der mitextrahiert werden kann. Daß im Wasserdampfdestillat von Mageninhalt und Organen phosphor- und schwefelhaltige flüchtige Verbindungen vorhanden sein können, die nicht aus Thiophosphorsäureestern stammen, wurde bereits erwähnt.

GUTENMANN hat 1963 zur Bestimmung von Thiophosphorsäureester-Insecticiden eine gaschromatographische Variante der Alkoxybestimmung nach ZEISEL empfohlen, wodurch die  $CH_3O$ - und  $C_2H_5O$ -Gruppen erfaßt werden. Für den forensischen Nachweis eines Insecticids ist dies gleichfalls zu wenig spezifisch. Dagegen kann das Auffinden der ganzen *Dialkylthiophosphorsäure*-Komponente nach FISCHER und KLINGELHÖLLER schon ein wertvoller Gruppennachweis für die Thiophosphorsäureester unter den Cholinesterase-Blockern sein.

Die endgültige Identifizierung kann daran anschließend durch den chemischen und physikalischen Nachweis des jeweiligen Acylrestes erfolgen.

1. Zum Nachweis des *Thimet* ist die Formaldehydbildung aus der Methylengruppe (Oxydation zum  $P = O$ -Sulfoxyd, Spaltung mit starkem

Alkali und anschließend Farbreaktion des entstandenen Formaldehyd mit Chromotropsäure) empfohlen worden (GIANG und SCHECHTER). Dies Vorgehen erscheint nicht sehr spezifisch (GIANG und SCHECHTER 1960) gibt aber nach vorheriger dünnschichtchromatographischer Isolierung (BLINN 1963) doch einen guten Hinweis. Wir konnten einen dem Nachweis der Systoxgruppe entsprechenden gaschromatographischen Nachweis des Acylrestes nach Hydrolyse durchführen.

2. Über den Nachweis von *Systox* und *Metasystox* durch hydrolytisch abgespaltenen  $\beta$ -Mercaptoäthylthioäthyläther oder die bei der alkalischen Verseifung reichlich entstehenden Äthandithioläther, der gaschromatographisch, dünnschichtchromatographisch sowie kristalloptisch möglich ist, haben wir bereits in Graz (WEINIG, LAUTENBACH und GELDMACHER-V. MALLINCKRODT) und Münster (GELDMACHER-V. MALLINCKRODT und WEIGEL) berichtet. Zusammen mit dem dünnschichtchromatographischen Verfahren von BÄUMLER und RIPPSTEIN ist auf diese Weise eine Unterscheidung zwischen den 4 Estern des  $\beta$ -Oxyäthylthioäthyläthers möglich.

3. Für *Trithion* wird eine für forensische Zwecke ungenügende Farbreaktion des hydrolytisch abgespaltenen p-Chlorthiophenol mit 2,6-Dibrom-N-chlor-p-chinonimin angegeben (PATCHETT), außerdem der Nachweis von freigesetztem Formaldehyd mit Chromotropsäure, u. U. nach dünnschichtchromatographischer Reinigung (BLINN). Gaschromatographischer Nachweis siehe EGAN u. Mitarb.

4. Auch für *Phenkapton* wurden unspezifische Farbreaktionen des Thiophenols beschrieben (STAMMBACH, DELLEY, SUTER und SZEKELY; HARDON, BRUNINK und van der POL). Eine recht selektive Bestimmung erlaubt die Reaktion des abgespaltenen Dichlorthiophenols mit Chloraussigsäure zu 2,5-Dichlorphenylthioessigsäure und Kondensation zu einem rot gefärbten Thioindigoderivat (STAMMBACH, DELLEY, SUTER und SZEKELY). Störungen sind allerdings z. B. durch das sehr ähnlich gebaute Trithion zu erwarten. Einen gaschromatographischen Nachweis haben EGAN u. Mitarb. angegeben.

5. HIRANO und TAMURA berichteten im April dieses Jahres über den Nachweis von *Lebaycid* nach Hydrolyse: Der abgespaltene Acylrest liefert mit 4-Aminoantipyrin in alkalischer Lösung und Gegenwart von Natriumperjodat eine Farbreaktion, die spektrophotometrisch ausgewertet wird.

IRUDAYASAMY und NATARAJAN schlagen zur Bestimmung gleichfalls die Hydrolyse und sodann den Nachweis des 4-Methylmerkapto-3-Methylphenols durch die UV-Absorptionskurve oder colorimetrisch nach Kupplung mit diazotierter Sulfanilsäure vor.

Zusammen mit v. CLARMANN konnten wir eine überlebte Vergiftung durch *Lebaycid* beobachten. Da eine solche bisher nicht beschrieben

wurde, möchte ich etwas näher auf Symptome und Nachweis eingehen:

Ein 25jähriger Mann nahm gegen 11<sup>00</sup> Uhr eine nicht näher bekannte Menge Lebaycid zusammen mit Alkohol auf.  $\frac{1}{2}$  Std später Erbrechen, starker Schweißausbruch, schließlich Bewußtlosigkeit. Die Pupillen waren sehr eng. Nach Einlieferung in die Toxikologische Station des Städtischen Krankenhauses München rechts der Isar wurde der Patient künstlich beatmet und erhielt Atropin bis zur Pupillenreaktion sowie Toxogonin. Um 13<sup>30</sup> Uhr setzte die Spontanatmung wieder ein. Der Patient erholte sich langsam. Auffallend war die relativ hohe benötigte Toxogonin-Menge. Dies kann vielleicht teilweise erklärt werden im Zusammenhang mit Versuchsergebnissen von DUBOIS und KINOSHITA, die bei Ratten mit Atropin und PAM praktisch keine protektive Wirkung bei Lebaycidgaben feststellen konnten.

Zur Untersuchung standen uns Blut, Mageninhalt sowie Urin zur Verfügung.

In dem sofort nach der Einlieferung entnommenen Serum war die Cholinesteraseaktivität praktisch auf Null abgesunken.

Der Mageninhalt zeigte im biologischen Test starke insecticide Wirkung. In dem Ätherextrakt der Magenspülflüssigkeit konnte dünn-schichtchromatographisch nach BÄUMLER und RIPPSTEIN eine Fraktion mit insecticider Wirkung in Höhe der Wirksubstanz Lebaycid, die als Vergleich mitgeführt worden war, gefunden werden. Diese besaß bei der spektrophotometrischen Messung im UV-Bereich die für Lebaycid angegebene Absorptionskurve (SCHRADER 1960).

Bei der Aufarbeitung nach FISCHER und KLINGELHÖLLER konnten wir keine Dimethylthiophosphorsäure finden, — warum, konnte noch nicht geklärt werden, — jedoch den Acylrest des Lebaycid, den wir aufgrund seiner UV-Absorptionskurve und auch papierchromatographisch sowie dünn-schichtchromatographisch nachwiesen.

Über die *Stoffwechselprodukte* der bisher besprochenen Thiophosphorsäureester beim Menschen ist nur bekannt, daß nach Aufnahme von Systox bzw. Metasystox ein phosphorhaltiges und ein schwefelhaltiges Abbauprodukt noch ungeklärter Natur im Harn zu finden waren (WIRTH; FISCHER und KLINGELHÖLLER). Da der Acylrest des Lebaycid einen analytisch leichter faßbaren Benzolring enthält, versuchten wir, im Harn des Vergifteten Lebaycid-Stoffwechselprodukte zu finden. Deshalb arbeiteten wir ihn nach FISCHER und KLINGELHÖLLER auf. Bei der dünn-schichtchromatographischen Untersuchung konnten wir keinen Anhaltspunkt für die Anwesenheit von Dimethylthiophosphorsäure finden. Bei Auftrennung des Extraktes nach BÄUMLER und RIPPSTEIN jedoch wurde eine Fraktion gefunden, die in ihren Rf-Wert und den Farbreaktionen mit N-Bromsuccinimid-Fluorescein (COOK) und diazotierter Sulfanil-

säure dem 3-Methyl-4-Methylmerkaptophenol entsprach und auch die hierfür typische UV-Absorptionskurve besaß. Die quantitative Auswertung ergab etwa 40% 3-Methyl-4-Methylmerkaptophenol im Harn.

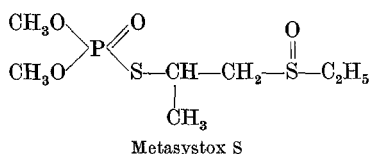
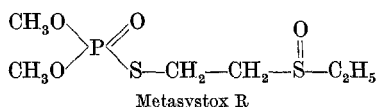
Hieraus läßt sich allerdings nicht sagen, ob Lebaycid unverändert im Harn ausgeschieden wird, oder ob, ähnlich wie bei E 605, der Acylrest schon vorher im Organismus abgespalten wurde.

Bei den weiteren analytischen Arbeiten auf dem Gebiet der insecticiden Thiophosphorsäureester mit Thioäther-Gruppierung muß nun den *Hauptmetaboliten*, nämlich den Sauerstoff-Analogen, dem Sulfoxyd und Sulfon, sowie eventuell auch Isomeren, Aufmerksamkeit geschenkt werden.

Eine Reihe der für die unveränderten Wirkstoffe gültigen Analysenverfahren ist sicher auch hier anwendbar. Neue Isolierungs-Probleme treten aber durch die größere Wasserlöslichkeit auf. Daneben macht die Identifizierung des Acylrestes bei Belegung des Schwefels mit Sauerstoff größere Schwierigkeiten.

Diese Untersuchungen sind umso wichtiger, als in einigen Fällen die Sulfoxyde bereits als Schädlingsbekämpfungsmittel kommerziell eingesetzt werden, so daß mit Vergiftungen zu rechnen ist.

Bisher sind auf dem Markt erschienen *Metasystox R*, (das Sulfoxyd des Metasystox) sowie *Metasystox S*, das Sulfoxyd eines höheren Metasystox-Homologen.



Zusammen mit MACHBERT haben wir uns mit dem Nachweis des *Metasystox R* befaßt. Der biologische Test sowie die Prüfung auf Dialkylthiophosphorsäure nach FISCHER und KLINGELHÖLLER brachten die gleichen Ergebnisse wie bei Metasystox. Daneben sind papierchromatographische, gaschromatographische IR-spektrophotometrische und oscillographische Verfahren angegeben worden, (s. ARTHUR und CASIDA; CROSBY und LAWS) die aber für forensische Zwecke oft nicht anwendbar sind, oder keine ausreichende Spezifität besitzen.

Es lag nahe, den für die Systoxgruppe ausgearbeiteten spezifischen Nachweis des Acylrestes auf Metasystox R anzuwenden. Hierzu war allerdings eine Reduktion des Sulfoxyds zum Thioäther erforderlich.

Dies gelingt leicht mit Natriumdisulfit im wäßrigen, schwach salzsauren Milieu. Nach entsprechender Aufarbeitung können dann die für die Systoxgruppe bereits bekannten gaschromatographischen, kristalloptischen und dünnschichtchromatographischen Identifizierungsverfahren angeschlossen werden.

Ich darf den systematischen Analysengang, den wir für Thio- und Dithiophosphorsäureester mit einer Thioäthergruppe im Acylrest anwenden, zusammenfassend angeben:

Aufbewahrung der Asservate bei  $-15^{\circ}$  bis  $-20^{\circ}\text{C}$ , Anreicherung und Reinigung des Wirkstoffes durch Wasserdampfdestillation oder Extraktion, Konzentrierung und sodann

1. Durchführung des biologischen Testes. Positiver Ausfall spricht für die Anwesenheit eines *Insecticids*.

2. Prüfung der Cholinesterasehemmwirkung. Positiver Ausfall spricht für die Anwesenheit eines *Alkylphosphats*. Die Reaktivierbarkeit durch PAM kann das Ergebnis sichern.

3. Durchführung der Reaktion nach FISCHER und KLINGELHÖLLER. Das Auffinden von Dimethyl- und Diäthylthiophosphorsäure spricht für die Anwesenheit von *Thiophosphorsäureestern*.

4. Dünnschichtchromatographische Prüfung nach BÄUMLER und RIPPSTEIN. Dies gibt einen ersten näheren Hinweis auf die Natur des vorliegenden Wirkstoffes.

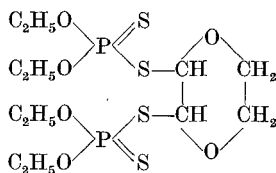
5. Nachweis des eine Differenzierung erlaubenden *Acylrestes*, sowie falls möglich, *UV*- und *IR*-spektrophotometrische und gaschromatographische Untersuchungen.

Bei Vorliegen eines Sulfoxydes muß u. U. ein Reduktionsschritt vor den Identifizierungsvorgang eingeschaltet werden.

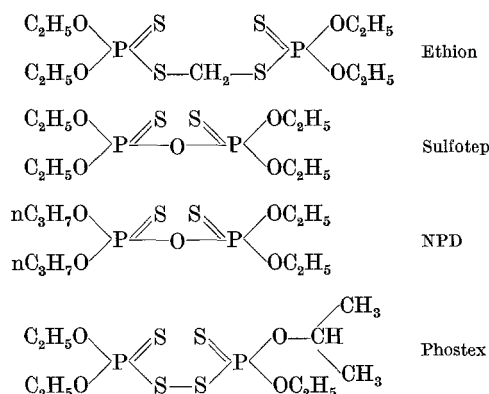
Die Prüfung auf den Acylrest und die Alkylthiophosphorsäuren sollte auch im Urin erfolgen.

Zum Nachweis einer Vergiftung sind außerdem die klinischen, feingeweblichen, pathologisch-anatomischen und biochemischen Befunde zu berücksichtigen.

Zu den Thiophosphorsäureestern mit schwefelhaltigem Acylrest kann man auch eine Gruppe von Insecticiden rechnen, die meist symmetrisch aufgebaut sind und bei denen Schwefel nur an Phosphor, nicht an Kohlenstoff wie bei den eben besprochenen Thioäthern gebunden ist, nämlich *Delnav*, *Ethion*, *Sulfotep*, *NPD* und *Phostex*.



Delnav



Ethion und Sulfotep sind im Pflanzenschutzmittelverzeichnis 1964 der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig aufgeführt. Als Insecticide (SCHRADER 1963) geben sie einen positiven biologischen Test, außerdem ist bei allen eine Hemmwirkung auf die Cholinesterasen zu erwarten (SCHRADER 1963), die für Ethion (ARCHER und ZWEIG) und Sulfotep (GIANG und HAL) bei einem Bestimmungsverfahren angewandt wird. Auch über die Methoxyl- bzw. Äthoxylgruppe (GUTENMANN und LISK) — dies Verfahren wurde für Ethion entwickelt — sowie nach FISCHER und KLINGELHÖLLER — für Delnav konnten die Autoren dies zeigen — dürften alle zu erfassen sein.

*Delnav* zeigt charakteristische IR-Banden (ARTHUR und CASIDA), außerdem beschrieb DUNN eine sehr spezifische Nachweisreaktion. Sie beruht auf der katalytischen Spaltung des Wirkstoffes durch Quecksilberchlorid in Äthylenglykol, HCl und *Glyoxal*, welches in das gut charakterisierbare 2,4-Dinitrophenylhydrazon übergeführt wird. Dünnschichtchromatographischer Nachweis: *Braithwaite*, gaschromatographischer Nachweis: EGAN u. Mitarb.

Auch für *Ethion* ist der Nachweis über das IR-Spektrum angegeben worden (GUNTHER, BLINN und CARMAN), außerdem ist es — relativ spezifisch nach dünnschichtchromatographischer Auftrennung — ebenso wie z. B. Thimet über die Farbreaktion des aus der Methylengruppe entstandenen Formaldehyd mit Chromotropsäure zu erfassen (BLINN). Gaschromatographischer Nachweis: EGAN u. Mitarb.

Für die Anwesenheit der Thiophosphorsäureester NPD und Phostex kann allenfalls der n-Propyl- bzw. Isopropylrest einen Hinweis geben.

Bei den beiden zuletzt genannten Verbindungen sind wir zur Zeit noch nicht in der Lage, einen forensisch befriedigenden Nachweis anzugeben.

Das ist die analytische Situation, in der wir heute stehen. Zur Zeit sucht die Schädlingsbekämpfung nach neuen Wegen, die geeignet sein sollen, Gefahren für die Bevölkerung zu vermindern.

So laufen Versuche mit dem Ziel, durch synthetische Duftköder die männlichen Schädlinge in unfruchtbare, kaum besiedelte Gegenden zu locken, um sie dort mit den herkömmlichen Mitteln zu vernichten.

Seit Jahren wird auch schon versucht (KNIPLING), die sogenannte „Selbstvernichtungsmethode“ durch Aussetzen steriler Insektenmännchen — die Sterilität kann durch radioaktive Bestrahlung oder durch chemische Mittel erreicht werden (BORKOVEC) — anzuwenden. Dies hat bei Einzelaktionen schon zur Ausrottung ganzer Insektenpopulationen nach wenigen Generationen geführt.

Trotzdem dürften für die nächsten Jahre die heute dargestellten Probleme für die forensische Toxikologie weiterhin von Bedeutung sein.

#### *Zusammenfassung*

Es wird ein Überblick über die Methoden zum forensischen Nachweis insecticider Thiophosphorsäureester mit schwefelhaltigem Acylrest gegeben, und ein systematischer Analysengang hierfür vorgeschlagen. Im einzelnen werden besprochen:

a) Thiophosphorsäureester mit einer Thioäther-Gruppe im Acylrest (Thimet, Systox, Metasystox, Disyston, Thiometon, Trithion, Phencapton, Lebaycid, Metasystox R).

b) Delnav, Ethion, Sulfotep, NPD, Phostex.

#### *Summary*

A survey over the methods of forensic detection of pesticidal thiophosphoric acid esters with a sulfurcontaining acyl-group has been given, and a systematic means of analysis for this has been proposed. In particular the following have been spoken of:

a) thiophosphoric acid esters with a thioether-group (Thimet, Systox, Metasystox, Disyston, Thiometon, Trithion, Phencapton, Lebaycid, Metasystox R).

b) Delnav, Ethion, Sulfotep, NPD, Phostex.

#### *Literatur*

- AHMED, M. K., J. E. CASIDA, and R. E. NICHOLS: Bovine metabolism of organophosphorus insecticides: significance of rumen fluid with particular reference to parathion. *J. agr. Food Chem.* **6**, 740 (1958).
- AMMON, R.: Die fermentative Spaltung des Acetylcholins. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **233**, 486 (1934).
- ARCHER, T. E., and G. ZWEIG: Direct colorimetric analysis of cholinesterase inhibiting insecticides with indophenyl acetate. *J. agr. Food Chem.* **7**, 178 (1959).
- ARTHUR, B. W., and J. E. CASIDA: Biological activity and metabolism of Hercules AC 528 in rats and cockroaches. *J. econ. Entomol.* **52**, 20 (1959).
- AUGUSTINSSON, K. B.: Cholinesterase. A study in comparative enzymology. *Acta physiol. scand.* **15**, Suppl. 52 (1948).



- BÄUMLER, J., u. S. RIPPSTEIN: Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Insektiziden. *Helv. chim. Acta* **44**, 1162 (1961).
- BARRETTE, J. P., and R. PAYFER: Gas chromatographic analysis of pesticide formulations. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **47**, 259 (1964).
- BÁTORA, V.: Insektizide. In: *Handbuch der Papierchromatographie*, herausgeg. von I. M. HAIS u. K. MACEK, Bd. I. Jena: Gustav Fischer 1958.
- BLINN, R. C.: Thin-layer chromatographic isolation and infrared or colorimetric identification of Thimet residues. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **46**, 952 (1963).
- BLINN, R. L., and F. A. GUNTHER: The utilisation of infrared and ultraviolet spectrophotometric procedures for assay pesticide residues. In *Residue Reviews*, ed. by F. A. GUNTHER, vol. II, p. 99. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- BORKOVEC, A. B.: Insect chemosterilants: Their chemistry and application. In: *Residue reviews*, vol. VI, ed. by F. A. GUNTHER. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964.
- BOSIN, W. A.: Analysis of pesticide residues using microcoulometric temperature-programmed gas chromatography. *Analyt. Chem.* **35**, 833 (1963).
- BOWMANN, J. S., and J. E. CASIDA: Metabolism of the systemic insecticide O,O-diethyl-S-ethylthiomethyl phosphorodithioate (Thimet) in plants. *J. agric. Food Chem.* **5**, 192 (1957).
- BRAITHWAITE, D. P.: Detection of phosphorothioate pesticides. *Nature (Lond.)* **200**, 1011 (1963).
- BROWN, A. W. A.: The spread of insecticide resistance in pest species. In: *Advances in pest control research*, vol. II, p. 351, ed. by R. L. METCALF. New York and London: Interscience Publ. 1958.
- BÜCH, O., u. W. FLORANGE: Tödliche Vergiftung durch intranasale Applikation eines esteraseshemmenden Schädlingsbekämpfungsmittels (Systox?). *Arch. Toxikol.* **15**, 28 (1954/55).
- BURCHFIELD, H. P., and E. E. STORRS: Biochemical applications of gas chromatography, p. 299. New York and London: Academic Press 1962.
- CHILWELL, E. D., and G. S. HARTLEY: Determination of residual organo-phosphorus insecticides in foodstuffs. *Analyst* **86**, 148 (1961).
- CLARMANN, M. v., u. M. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT: Über eine erfolgreich behandelte akute orale Vergiftung durch das Spritzmittel Lebaycid® Bayer und dessen Nachweis im Mageninhalt und Harn. *Arch. Toxikol.* (im Druck).
- COFFIN, D. E.: Oxidative metabolism and persistence of Trithion on field-sprayed lettuce. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **47**, 662 (1964).
- COOK, J. W.: Paper chromatography of some organic phosphate insecticides. I. New spot test. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **37**, 984 (1954).
- CORBETT, E. B.: Infrared method of analysis for 10% Di-Syston granules. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **47**, 257 (1964).
- COULSON, D. M., L. A. CAVANAGH, and J. STUART: Gas chromatography of pesticides. *J. agr. Food Chem.* **7**, 250 (1959).
- — J. E. de VRIES, and B. WALTHER: Microcoulometric gas chromatography of pesticides. *J. agr. Food Chem.* **8**, 399 (1960).
- CROSBY, N. T., and E. Q. LAWS: The use of infrared spectroscopy in the analysis of pesticide residues. *Analyst* **89**, 319 (1964).
- DERKOSCH, J., H. JANSCH, R. LEUTNER u. F. X. MAYER: Zum Nachweis des Schädlingsbekämpfungsmittels E 605. *Mh. Chemie* **85**, 684 (1954).
- DOTZAUER, G., u. W. NAEVE: Biologischer Test zum Nachweis von Insektiziden im Mageninhalt. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **94**, 123 (1955/56).

- DUBOIS, K. P.: Potentiation of the toxicity of insecticidal organic phosphates. *Arch. ind. Hlth* **18**, 488 (1958).
- Potentiation of the toxicity of organophosphorus compounds. In: *Advances in pest control research*, edit. by R. L. METCALF, vol. IV. New York: Interscience Publ. 1961.
- , and F. KINOSHITA: Acute toxicity and anticholinesterase action of O,O-Dimethyl O-(4[methylthio-]m-tolyl) phosphorothioate (DMPT, Baytex) and related compounds. *Toxicol. appl. Pharmacol.* **6**, 86 (1964).
- DUNN, C. L.: Determination of 2,3-p-Dioxanedithiol-S,S-bis (O,O-diethylphosphorothioate). *J. agr. Food. Chem.* **6**, 203 (1958).
- EGAN, H., E. W. HAMMOND, and J. THOMSON: The analysis of organophosphorus pesticide residues by gas chromatography. *Analyst* **89**, 175 (1964).
- ERDMANN, W. D., u. L. LENDELE: Vergiftungen mit esteraseblockierenden Insektiziden aus der Gruppe der organischen Phosphorsäureester (E 605 und verwandte). *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* **10**, 104 (1958).
- FEINSTEIN, L., and M. JACOBSON: Insecticides occurring in higher plants. *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, herausgeg. v. L. ZECHMEISTER, Bd. X, S. 423. Wien: Springer 1953.
- FISCHER, K., u. W. SPECHT: Kritische Bemerkungen zum Metasystoxnachweis. *Arch. Toxikol.* **16**, 278 (1957).
- FISCHER, R., u. W. KLINGELHÖLLER: Der Nachweis und die quantitative Bestimmung von Thiophosphorsäureestern in biologischem Material. *Arch. Toxikol.* **19**, 119 (1961).
- FREHSE, H., u. H. NIESSEN: Die Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen. *Z. anal. Chem.* **192**, 94 (1963).
- — u. H. TIETZ: Methode zur Bestimmung von Rückständen des Insektizids Lebaycid in pflanzlichem Material. *Pflanzenschutz-Nachrichten „Bayer“* **15**, 152 (1962).
- FRIEDBERG, K. D., u. F. SAKAI: Spezifischer Nachweis von Vergiftungen mit Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox) in Blut und Hirngewebe mit Hilfe eines fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin-Aldoxim-Methiodid, PAM). *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **47**, 580 (1958).
- FUKUTO, T. R., R. L. METCALF, R. B. MARCH, and M. G. MAXON: Chemical behavior of systox isomers in biological systems. *J. econ. Entomol.* **48**, 347 (1955).
- J. P. WOLFE III, R. L. METCALF, and R. B. MARCH: Plant metabolism of the thiol isomer of systox. *J. econ. Entomol.* **49**, 147 (1956).
- GAJAN, R. J.: Application of oscillographic polarography to determination of organic phosphorus pesticide residues. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **45**, 40 (1962).
- GELDMACHER-V. MALLINCKRODT, M.: Über den Nachweis insektizider Ester der Dialkylthio- und Dithiophosphorsäuren mit  $\beta$ -Oxyäthylthioäthyläther für forensische Zwecke. *Habil.-Schrift Erlangen* 1964.
- , u. I. KAISER: Die Bestimmung der Cholinesterase-Aktivität mit o-Nitrophenylbutyrat. Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit der Methode für forensische Zwecke. (In Vorbereitung).
- , u. U. WEIGEL: Nachweis von Systox und Metasystox durch Schwermetallkomplexverbindungen. *Arch. Toxikol.* **20**, 114 (1963).
- GETZ, M. E.: The determination of organophosphat pesticides and their residues by paper chromatography. In: *Residue reviews*, edit. by F. A. GUNTHER, vol. II. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.

- GIANG, P. A., and S. A. HALL: Enzymatic determination of organic phosphorus insecticides. *Analyt. Chem.* **23**, 1830 (1951).
- , and M. S. SCHECHTER: Colorimetric determination of residues of phorate and its insecticidally active metabolites. *J. agric. Food Chem.* **8**, 51 (1960).
- GROSSKOPF, K.: Systox-Nachweis. Anwendung der Prüfröhrchen-Technik in der toxikologischen Chemie. *Chem. Ztg* **83**, 115 (1959).
- GUNTHER, F. A.: Instrumentation in pesticides residue determinations. In: *Advances in pest control research*, vol. V, edit. by R. L. METCALF. New York and London: Interscience Publ. 1962.
- , and R. C. BLINN: Analysis of insecticides and acaricides. In: *Chemical analysis*, editors: BEVERLY L. CLARKE and J. M. KOLTHOFF, vol. VI. New York: Interscience Publ. 1955.
- — and G. E. CARMAN: Residues of Ethion on and in lemons as determined by an infrared spectrophotometric procedure. *J. agric. Food Chem.* **10**, 224 (1962).
- GUTENMANN, W. H., and D. J. LISK: Gas chromatographic determination of organo-phosphorus insecticides using the Zeisel alcoxyl reaction. *J. agric. Food Chem.* **11**, 470 (1963).
- HARDON, H. J., H. BRUNINK, and E. W. VAN DER POL: *Analyst* **84**, 102 (1959). *Zit. SCHRADER* 1963.
- HARRIS, H., and M. WHITTACKER: Differential response of human serum cholinesterase to an inhibitor in potato. *Nature (Lond.)* **183**, 1808 (1959).
- HARTZELL, A.: *Advanc. Chem. Ser.* **1**, 99 (1951). *Zit. SUN* 1957.
- HEATH, D. F.: *Organophosphorus poisons*. Oxford-London-New York-Paris: Pergamon Press 1961.
- HECHT, G., u. W. WIRTH: Zur Pharmakologie der Phosphorsäureesterderivate der Thiophosphorsäure. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.* **211**, 264 (1950).
- HIRANO, Y., and T. TAMURA: Spectrophotometric microdetermination of Lebaycid, O,O-Dimethyl-O-(4-[methylthio]-m-tolyl) phosphorothioate. *Analyt. Chem.* **36**, 800 (1964).
- IRUDAYASAMY, A., and A. R. NATARAJAN: Determination of Baytex in biological material. *Curr. Sci.* **33**, 82 (1964).
- JUCKER, O.: Thiometon. Verhalten in der Pflanze, Bestimmung von Spritzrückständen. *Mitt. Lebensmitt. Hyg.* **49**, 299 (1958).
- KAISER, H.: Die erste tödlich verlaufene Systox-Vergiftung. *Dtsch. Apoth.-Ztg* **93**, 41 (1953).
- Die erste tödlich verlaufene Systoxvergiftung. *Angew. Chemie* **65**, 165 (1953).
- KALOW, W.: *Pharmacogenetics*. Philadelphia and London: W. B. Saunders Co. 1962.
- KLIMMER, O. R., u. W. PFAFF: Untersuchungen über die Toxizität des neuen Kontaktinsektizides O,O-Dimethyl-thiophosphorsäure-O-( $\beta$ -S-äthyl)-äthylester. *Arzneimittel-Forsch.* **5**, 584 (1955).
- KNIPPLING, E. F.: Die Selbstvernichtungsmethode der Schädlingsbekämpfung. *Umschau* **63**, 632 (1963).
- KRAMLICH, W. E., and A. M. PEARSON: Separation and identification of cooked beef flavor components. *Food Res.* **25**, 712 (1960).
- LAUG, E. P.: Tissue distribution of a toxicant following oral ingestion of the gamma isomer of benzene hexachloride by rats. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **93**, 277 (1948).
- LAWES, E. Q., and D. J. WEBLEY: The determination of organo-phosphorus insecticides in vegetables. A general method for insecticide residues. *Analyst* **86**, 249 (1961).

- LIDELL, J., H. LEHMANN, and E. SILK: A "silent" pseudocholinesterase gene. *Nature (Lond.)* **193**, 561 (1962).
- LORKE, D., u. O. SCHMIDT: Beitrag zum postmortalen Abbau des Schwefels in Abhängigkeit von der Redoxlage. (Die Bildung von Merkaptanen und Thioäthern.) *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **42**, 164 (1952).
- MACHATA, G.: Über den Nachweis von E 605 und Systox in der gerichtsmedizinischen Praxis. *Arch. Toxikol.* **16**, 119 (1956).
- MACHBERT, G., u. M. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT: Untersuchungen zum Nachweis von Metasystox R (O,O-Dimethyl-S-äthylsulfinythiolphosphat). In Vorbereitung.
- MAIN, A. R., K. E. MILES, and P. E. BRAID: The determination of human-serum-cholinesterase activity with O-nitrophenyl butyrate. *Biochem. J.* **78**, 769 (1961).
- MARCH, R. B., R. L. METCALF, T. R. FUKUTO, and M. G. MAXON: Metabolism of Systox in the white mouse and american cockroach. *J. econ. Entomol.* **48**, 355 (1955).
- MARESCH, W.: Über Systoxvergiftungen. *Wien. klin. Wschr.* **69**, 774 (1957).
- MENN, J. J., J. B. MCBAIN, and M. J. DENNIS: Detection of naturally occurring cholinesterase inhibitors in several crops by paper chromatography. *Nature (Lond.)* **202**, 697 (1964).
- METCALF, R. L., T. R. FUKUTO, and R. B. MARCH: Plant metabolism of Dithio-Systox and Thimet. *J. econ. Entomol.* **50**, 338 (1957).
- R. B. MARCH, T. R. FUKUTO, and M. G. MAXON: The nature and significance of Systox residues in plant material. *J. econ. Entomol.* **48**, 364 (1955).
- MÜHLMANN, R., u. H. TIETZ: The chemical behavior of methylisostox in the living plant and the problem of residues. *Höfchen-Briefe* **9**, 116 (1956).
- NAEVE, W.: Tödliche akute Vergiftung mit dem Pflanzenschutzmittel Systox (Wirkstoff „E 1059“ Bayer). *Arch. Toxikol.* **15**, 167 (1954/55).
- NEEDHAM, P. H.: Investigation into the use of bioassay for pesticide residues in foodstuffs. *Analyst* **85**, 792 (1960).
- NEGHERBON, W. O.: Handbook of toxicology, vol. III: Insecticides. Philadelphia and London: W. B. Saunders 1959.
- NELSON, R. C.: Screening procedure for organothiophosphate pesticide residues on fruits and vegetables by microcoulometric gas chromatography. *J. Ass. Offic. agr. Chem.* **47**, 289 (1964).
- NIESSEN, H., H. TIETZ u. H. FREHSE: Über das Vorkommen biologisch aktiver Umwandlungsprodukte des Wirkstoffes S 1752 bei der Anwendung von Lebaycid®. *Pflanzenschutznachrichten Bayer* **15**, 129 (1962).
- NOLAN, K., and F. WILCOXON: *Agr. Chemicals* **5**, 53 (1950). *Zit. SUN* 1957.
- O'BRIEN, R. D.: *Toxic phosphorus esters*. New York and London: Academic Press 1960.
- ORSELL, W. H.: Inhibition of human plasma cholinesterase in vitro by plant extracts. *Lloydia* **26**, 59 (1963).
- K. A. VAIDYA, and P. A. DAHM: Inhibition of human plasma cholinesterase in vitro by extracts of solanaceous plants. *Science* **128**, 1136 (1959).
- PATCHETT, G. G.: Determination of R 1303 spray residues in oranges, lemons and alfaalfa. Richmond Calif.: Stauffer Chemical Co. 1956.
- PFAFF, W.: Kontrolle der Cholinesterase-Aktivität im Blut von Spritzwarten bei der Großanwendung von Systox (Diäthyl-äthylmercaptoäthyl-thiolphosphat). *Z. Pflanzenschutzkr. u. Pflanzenschutz* **62**, 236 (1955).

- PIETSCHMANN, H.: Unterschiede der Aktivitäten von Serumcholinesterase und Serum-Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase bei Erkrankungen der Leber. *Wien. Z. inn. Med.* **41**, 409 (1960).
- PRIBILLA, O.: Vergiftungen mit E 605 (O,O-Diäthyl-O-p-Nitrophenyl-thiophosphorsäureester). *Arch. Toxikol.* **15**, 210 (1955).
- REINL, W.: Über gewerbliche Vergiftungen durch Phosphorverbindungen (Phosphorchloride, Phosphorwasserstoff und organische Phosphorsäureester). *Arch. Toxikol.* **16**, 158 (1956).
- ROHDE, R. A.: Acetylcholinesterase in plant-parasitic nematodes and an anti-cholinesterase from asparagus. *Proc. helminth. Soc. Wash.* **27**, 121 (1960).
- RUBNER, M.: Über das Vorkommen von Merkaptanen. *Arch. Hyg. (Berl.)* **19**, 136 (1893).
- SIMPSON, N. E., and W. KALOW: The "silent gene" for serum cholinesterase. *Amer. J. human. Genet.* **16**, 180 (1964).
- SCHILF, E.: Zur Physiologie und Klinik der Cholinesterasen. *Medizinische* **1955**, 1113.
- SCHMIDT, G.: Toxikologische Erfahrungen bei E 605-Vergiftungen. *Arch. Toxikol.* **15**, 361 (1955).
- SCHMIDT, J.: Beitrag zur akuten Systoxvergiftung durch perkutane Resorption. *Medizinische* **1959**, 2116.
- SCHRADER, G.: Organische Phosphorverbindungen als neuartige Insektizide. *Angew. Chemie* **62**, 471 (1950).
- Die Entwicklung des Bayer-Präparates „S 1752“. *Höfchen-Briefe* **13**, 1 (1960).
- Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäureester, 3. Aufl. Weinheim (Bergstr.): Verlag Chemie 1963.
- , u. H. KÜCKENTHAL: DBP 767723 und 767153 Farbenfabriken Bayer 1937.
- SCHREIBER, H.: Nascierender Wasserstoff in der toxikologischen Analyse. *Arch. Toxikol.* **16**, 354 (1956/57).
- STAMMBACH, K., R. DELLEY, R. SUTER und G. SZÉKELY: Über analytische Bestimmungen von Phenkapton. *Z. analyt. Chem.* **196**, 332 (1963).
- STEFANELLI, N.: Die Korrelation zwischen dem Albumingehalt und der Cholinesteraseaktivität des Blutserums und ihre Beurteilung bei Albuminverlust. *Klin. Wschr.* **19**, 1019 (1961).
- SUN, Y. P.: Bioassay of pesticide residues. In: *Advances in pest control research*, edit. by L. R. METCALF, vol. I, p. 449. New York and London: Interscience Publ. 1957.
- , J. E. PANKASKIE, and J. Y. TUNG SUN: Some important factors affecting microbioassay of insecticide residues. Presented at the 63rd Annual Meeting, Amer. Ass. econ. Entomol., Dec. 1951.
- TERRIERE, L. C., and W. D. INGALSBE: Translocation and residual action of soil insecticides. *J. econ. Entomol.* **46**, 751 (1953).
- UNTERSTENHÖFFER, G.: Über den gegenwärtigen Stand der Insektizid- und Akarizid-Resistenz. *Höfchen-Briefe* **13**, 141 (1960).
- VÖLKEN, W.: Beitrag zum toxikologischen Nachweis des Pflanzenschutzmittels „Systox“. *Dtsch. Apoth.-Ztg* **95**, 865 (1955).
- WEINIG, E., L. LAUTENBACH u. M. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT: Gaschromatographische Studien zum Nachweis von Metasystox. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **51**, 565 (1961).
- WEINMANN, W.: Serienmäßiger quantitativer Nachweis der Insektizidrückstände bei Obst und Gemüse. *Z. Lebensmitt.-Untersuch.* **107**, 504 (1958).
- WIRTH, W.: Zur Pharmakologie der insektiziden Phosphorsäureester. *Dtsch. med. Wschr.* **79**, 1205 (1954).

WOOLF, L. J.: Gene expression in Heterozygotes. *Nature* (Lond.) **194**, 609 (1962).  
YU-SHIH-CHEN: Microdetermination of parathion (and related compounds). *Bull. Ass. Agr. Chem. Natl. Taiwan Univ. (FORMOSA)* **8**, 21 (1959); *Chem. Abstr.* **53**, 22707i (1959).

Privat-Dozentin Dr. med. et phil. nat. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT  
Institut für gerichtliche Medizin  
der Universität Erlangen-Nürnberg  
Erlangen, Universitätsstraße 22

**A. KAMM (Marburg): Papierchromatographischer Nachweis einiger Cumarinderivate.** (Erscheint in *Arch. Toxikol.*)

**G. MACHATA (Wien): Der chemische Nachweis des Dopings beim Sport.**

Die meisten nationalen Sportverbände besitzen Verordnungen gegen das Doping. Die Verordnungen sind nicht alle gleich, doch ist ihr wesentlicher Inhalt, daß das Dopen prinzipiell verboten ist. In den Bestimmungen ist für uns der wesentlichste Teil, welche Tatbestände zum Doping führen. Die österreichische Dopingkommission legt diesen Tatbestand mit folgendem Satz fest: „Doping ist die Verabreichung oder der Gebrauch von körperfremden Mitteln in jeder Form und physiologischen Mitteln, in abnormaler Dosis oder auf abnormalem Wege zugeführt, mit dem Ziel der unfairen Leistungssteigerung.“

Dieser Satz ist in den weiteren Bestimmungen ausführlich erläutert und durch namentliche Anführung verschiedener Drogen eindeutig festgelegt. Dazu gehören z. B. Psychopharmaca, Analeptica, Morphinalkaloide und Strychnin, ebenso wie auch Äthylalkohol.

Bei solchen weitgehenden Forderungen muß auch die Möglichkeit geschaffen werden, Kontrollen durchzuführen. Jeder Teilnehmer an einer Wettveranstaltung ist daher verpflichtet, seine Kleider, Sportgeräte, Gepäck, Verpflegung sowie seine Körperausscheidungen (Harn) untersuchen zu lassen.

Die Frage an den forensischen Chemiker ist nun die Nachweisbarkeit verschiedener, zum Dopen verwendeter Substanzen, die Möglichkeit einer allfälligen Aussage über Dosierung und Körperpassage<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup>. Dazu kommt, daß das Untersuchungsergebnis eindeutig sein und auch rasch vorliegen muß. Deswegen ist es nicht einfach, solche Untersuchungen durchzuführen. Schon aus Gründen der größten Erfahrung, kommen nach unserer Meinung nur größere toxikologisch-chemische Laboratorien, allenfalls gut eingerichtete klinisch-chemische Laboratorien, in Frage. Zur Forderung der Schnelligkeit der Analyse sei nur darauf verwiesen, daß zum Beispiel nach Beendigung eines Rennens in der Zeit bis zur Siegerehrung die Analyse fertig sein muß, da es nicht angängig ist, nachträglich eine Reihung zu ändern und einen Siegespreis abzuerkennen.