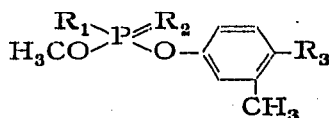


## Notes

### Papierchromatographische Trennung aromatischer Phosphorsäureester-Insektizide

Das Insektizid LEBAYCID® enthält als Wirkstoff O,O-Dimethyl-O-(3-methyl-4-methylmercaptophenyl)-thiophosphat = Mercaptophos (I) (siehe Tabelle I). Nach Applikation an Pflanzen ist eine Oxydation des Esters durch Einwirkung von Licht, Luftsauerstoff und pflanzeigenen Enzymen zu den Verbindungen II–VI möglich. Darüberhinaus ist eine Isomerisierung von I zur S-Methylverbindung VII denkbar, die wiederum zu Sulfoxyl (VIII) und Sulfon (IX) oxydiert werden kann.

TABELLE I



Verbindung	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
I	—OCH <sub>3</sub>	= S	—SCH <sub>3</sub>
II	—OCH <sub>3</sub>	= S	—SO·CH <sub>3</sub>
III	—OCH <sub>3</sub>	= S	—SO <sub>2</sub> ·CH <sub>3</sub>
IV	—OCH <sub>3</sub>	= O	—SCH <sub>3</sub>
V	—OCH <sub>3</sub>	= O	—SO·CH <sub>3</sub>
VI	—OCH <sub>3</sub>	= O	—SO <sub>2</sub> ·CH <sub>3</sub>
VII	—SCH <sub>3</sub>	= O	—SCH <sub>3</sub>
VIII	—SCH <sub>3</sub>	= O	—SO·CH <sub>3</sub>
IX	—SCH <sub>3</sub>	= O	—SO <sub>2</sub> ·CH <sub>3</sub>

Eine vollständige papierchromatographische Auftrennung eines Gemisches der Verbindungen I–IX, die sich in ihren physikalischen Eigenschaften nur wenig unterscheiden, gelingt durch Kombination zweier verschiedener Systeme.

#### Papierchromatographische Auftrennung

*System I.* In diesem System verwendeten wir die acetylierten "Ederol"-Papiere\* No. 202/11.5/100, 202/12.8/100 und 202/14.8/100.

In der Literatur werden mehrere Bezeichnungsweisen für den Acetylierungsgrad verwendet. Wir folgen hier den Ausführungen der Herstellerfirma der "Ederol"-Papiere<sup>1</sup>:

"Gebräuchlich ist die Angabe in Prozent Acetylgruppe; ebenso findet man auch die Angabe in Prozent Essigsäure. Häufig wird der vorliegende Acetylgehalt auf den

\* Hersteller: J. C. Binzer, Hatzfeld/Eder, Deutschland.

maximal erreichbaren (= 61.7 %) bezogen. Die Angabe erfolgt dann in Prozent der möglichen Acetylierung. Berücksichtigt man, dass für den Gebrauch in der Praxis nicht so sehr der Grad der Acetylierung als vielmehr das erreichte Ausmass der Hydrophobierung interessiert, so erscheint es am besten, den Acetylierungsgrad in Prozent der maximal möglichen Aufnahme von drei Acetylgruppen pro Zuckerbaustein (= 61.7 % Acetyl bzw. 62.5 % Essigsäure oder 44.8 %  $\text{CH}_3\text{CO}-$ ) auszudrücken."

Die Angabe 202/11.5/100 bedeutet, dass es sich um die Papiersorte 202 mit 11.5 % des möglichen Acetylgehaltes handelt. Da, wie in Tabelle III dargestellt, der Acety-

TABELLE II  
GEGENÜBERSTELLUNG VERSCHIEDENER MÖGLICHKEITEN ZUR  
ANGABE DES "ACETYLIERUNGSGRADES"

Acetylierungs- grad	Entsprechende Angabe in		
	% Acetyl	% Essigsäure	% $\text{CH}_3\text{CO}-$ = Gew. zunahme
11.5/100	7.1	7.2	5.15
12.8/100	7.9	8.0	5.7
14.8/100	9.1	9.25	6.6

lierungsgrad in unseren Versuchen für die Auftrennung der verschiedenen Metaboliten von entscheidender Bedeutung ist, geben wir in Tabelle II eine Gegenüberstellung der verschiedenen Bezeichnungsweisen für die drei von uns benutzten Papiersorten.

Wir arbeiteten in aufsteigender Technik mit der Fließmittelkombination Aceton-Acetonitril-Wasser (1:1:3). Die Substanzen I, II, III, IV, VII und IX werden in diesem System 1 aufgetrennt. Die Verbindungen V, VI und VIII hingegen werden nicht mehr getrennt, sondern bilden gemeinsam einen Fleck.

System 2. Das von uns entwickelte System 1 wird in idealer Weise ergänzt durch Chromatographie an propylenglykolimprägniertem Papier (Schleicher & Schüll 2043 b) mit Toluol-*n*-Hexan (7:3) als Fließmittel. Dieses System wurde von BENJAMINI *et al.*<sup>2</sup>

TABELLE III  
 $R_F$ -WERTE DES "LEBAYCID"-WIRKSTOFFS MERCAPTOSPHOS  
UND SEINER UMWANDLUNGSPRODUKTE

Verbindung	System 1 Acetylierungsgrad des Papiers			System 2	Farbe der Flecke nach Besprühen mit $\text{PdCl}_2$ -Lösung
	11.5/100	12.8/100	14.8/100		
I	0.20	0.07	0.04	0.92	ocker
III	0.39	0.22	0.15	0.88	braun
VII	0.49	0.33	0.27	0.82	gelb
IV	0.59	—	—	0.75	hellgelb
II	0.66	0.54	0.49	0.60	braun
IX	0.74	—	—	0.37	goldgelb
VI	} 0.86	} 0.78	} 0.79	0.24	—
VIII				0.15	goldgelb
V				0.07	—

zur Trennung von Derivaten des Insektizids O,O-Diäthyl-O-*p*-methylylsulfinylphenylthionophosphat angewendet. Die  $R_F$ -Werte der einzelnen von uns untersuchten Substanzen sind ebenfalls in Tabelle III wiedergegeben.

Die Substanzen V, VI, VIII und IX werden mit System 2 sehr gut aufgetrennt. Demgegenüber gelingt eine Trennung der Substanzen I, III und VII nicht mehr, da die Fleckengrösse mit steigenden  $R_F$ -Werten zunimmt und die Unterschiede der  $R_F$ -Werte relativ gering sind.

In beiden Systemen beträgt die Laufzeit bei Zimmertemperatur und einer Steighöhe der Lösungsmittelfront von 30–35 cm etwa 15 Stunden.

Soll eine quantitative Analyse aller Komponenten eines Gemisches vorgenommen werden, so bestimmt man nach Chromatographie im System 1 die Verbindungen I, II, III, IV, VII und IX sowie die Summe der Substanzen V, VI und VIII. Auf einem zweiten Chromatogramm im System 2 braucht man dann nur noch das Verhältnis der Verbindungen V, VI und VIII untereinander zu bestimmen.

Steht nur eine sehr geringe Substanzmenge zur Verfügung, so kann man nach Chromatographie im System 1 die Verbindungen V, VI und VIII mit Chloroform oder Aceton eluieren und anschliessend im System 2 chromatographieren.

#### *Sichtbarmachen der Flecke*

Die Verbindungen I–IV und VII–IX geben gelbe bis braune Flecke nach Besprühen mit einer Lösung von 0.5 g  $\text{PdCl}_2$  und 2 ml konz. HCl in 100 ml Wasser. 10–20  $\mu\text{g}$  der Verbindungen können auf diese Weise noch gut sichtbar gemacht werden. Die Farben der einzelnen Flecke sind in Tabelle III wiedergegeben.

Es ist bisher nicht gelungen, die Substanzen V und VI nach Chromatographie im System 2 unmittelbar auf dem Papier anzufärben. Ein Nachweis ist jedoch möglich durch Ausschneiden der den Verbindungen entsprechenden Zonen aus dem Chromatogramm, Nassveraschung und Mikrophosphorbestimmung<sup>3</sup>. Diese Methode bietet zugleich die Möglichkeit einer quantitativen Analyse.

Über die Applikation von <sup>32</sup>P-markiertem LEBAYCID an Pflanzen, die quantitative Analyse des Metabolitengemisches nach Auftrennung in den beschriebenen Systemen und die daraus sich ergebenden Folgerungen auf den Oxydationsmechanismus wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden<sup>4</sup>.

Das System 1 eignet sich auch zur Auftrennung anderer Organophosphorsäureester ähnlicher Struktur. Z.B. lassen sich Parathion und Paraoxon damit vorzüglich trennen ( $R_F$  0.26 bzw.  $R_F$  0.69 bei Acetylierungsgrad 10.3/100).

*Biologisches Institut der  
Farbenfabriken Bayer A.G.,  
Leverkusen (Deutschland)*

H. NIESSEN  
H. TIETZ  
H. FREHSE

<sup>1</sup> Merkblatt über acetylierte "Ederol"-Chromatographiepapiere, J. C. Binzer, Hatzfeld/Eder (1962).

<sup>2</sup> E. BENJAMINI, R. L. METCALF UND T. R. FUKUTO, *J. Econ. Entomol.*, 52 (1959) 94.

<sup>3</sup> H. TIETZ UND H. FREHSE, *Höfchen-Briefe*, 13 (1960) 212.

<sup>4</sup> H. NIESSEN, H. TIETZ UND H. FREHSE, *Pflanzenschutznachrichten, Bayer*, 5 (1962), im Druck.

Eingegangen den 16. Februar 1962