Hiervon zeigt vor allem 3-Isopropyl-benzo-2.1.3-thiadiazinon-4.2.2-dioxid (**13**)

bei Nachauflaufenwendung mit einer Aufwandmenge von 1,5 bis 3 kg/ha Wirkstoff eine gute herbizide Kontaktwirkung an folgenden Unkräutern und Ungräsern:

Matricaria chamomilla, *Matricaria maritima*, *Anthemis arvensis*, *Chrysanthemum segetum*, *Polygonum persicaria*, *Stellaria media*, *Cyperus difformis*, *Cyperus rotundus*.

Besonders hervorragend ist hierbei die Wirkung auf Kamille und Cyperus-Arten. Gute Selektivität zeigt **13** in Winter- und Sommergetreide Mais, Reis, Sorghum und Sojabohnen.

Die Verbindungsklasse **12** ist auf folgendem Syntheseweg zugänglich: Alkylaminosulfonylchloride

(**14**)¹⁹ werden mit Anthranilsäuremethylester (**15**) zu den *N*-(2-Carbomethoxyphenyl)-*N'*-alkylsulfo-diamiden (**16**) umgesetzt und diese in wäßrig-alkoholischer Lösung durch Alkalien cyclisiert.

Das erhaltene Benzo-2.1.3-thiadiazinon-4.2.2-dioxid (**12**) wird durch Ansäuern ausgefällt und in hoher Ausbeute (über 95% der Theorie) isoliert.

¹⁹ Deutsches Bundes-Patent 1 237 582 (1964) BASF (G. WEISS u. G. SCHULZE).

Zum Verhalten des mindertoxischen Insektizids ³²P-Bromophos nach cutaner Applikation am Rind

WOLFGANG DEDEK und HEINZ SCHWARZ *

Institut für Biophysik der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Buch, Abteilung Chemische Toxikologie, Leipzig, und Institut für Veterinärwesen, Karl-Marx-Stadt

(Z. Naturforsch. **24 b**, 744—747 [1969]; eingegangen am 2. November 1968)

Nach cutaner Applikation von 20 mg/kg ³²P-Bromophos an lactierende Rinder wurde die in Blut und Milch nachweisbare Aktivität untersucht. Durch Dünnschichtchromatographie konnte gezeigt werden, daß Bromoxon nicht als Metabolit auftritt und nur im Blut ~0,01 ppm Bromophos vorhanden ist. Als hauptsächlicher Metabolit entsteht wahrscheinlich Desmethylbromophos mit Konzentrationen von 0,4—0,7 ppm in Blut und Milch. Mit toxikologisch bedeutsamen Rückständen ist nach cutaner Applikation von Bromophos daher nicht zu rechnen.

Der Thiophosphorsäureester Bromophos (*O,O*-Dimethyl-*O*-(4-Brom-2,5-dichlorphenyl)-thiophosphat, auch unter der Bezeichnung S 1942 als Versuchssubstanz bekannt, wurde etwa ab 1964 als neues Insektizid mit extrem geringer Warmblüttoxizität in die Praxis eingeführt¹. Es wirkt als Kontakt-

und Fraßgift; eine systemische Wirkung ist wahrscheinlich nicht vorhanden^{1, 2} und auf Grund der niedrigen Wasserlöslichkeit von Bromophos³ sowie der relativ geringen Mengen des als wirksamen Metaboliten gebildeten Bromoxons⁴ auch nicht zu erwarten. Im Pflanzen- und Vorratsschutz wird es,

* Anschrift der Verfasser: Dr. rer. nat. habil. W. DEDEK, X 705 Leipzig, Permoserstr. 15 und Vet.Rat Dr. H. SCHWARZ, X 90 Karl-Marx-Stadt, Dresdner Str. 183.

¹ R. IMMEL u. G. GEISTHARDT, Meded. landb. Hooges. Gent **29**, 1242 [1964].

² R. IMMEL u. M. STIASNI, Proc. 3. British Insecticide and Fungicide Conf. 1965, 506 [1965].

³ J. KINKEL, G. MUAČEVIĆ, R. SEHRING u. G. BODENSTEIN, Arch. Toxikol. **22**, 36 [1966].

⁴ D. G. ROWLANDS, J. stored Prod. Res. **2**, 1 [1966].

z. T. in Kombination mit anderen Insektiziden, für unterschiedliche Zwecke eingesetzt, worauf hier nicht näher eingegangen wird.

In der Veterinärmedizin wird Bromophos zur Bekämpfung verschiedener Ektoparasiten an Haustieren sowie zur Stalldesinfektion eingesetzt. Die akute orale Toxizität (LD_{50}) schwankt zwischen 720 mg/kg beim Kaninchen und 9700 mg/kg beim Huhn; die perorale Verträglichkeit für landwirtschaftliche Nutztiere wurde zu 100–400 mg/kg ermittelt^{3,5}. Die erheblichen Differenzen der ermittelten Toxizitätswerte werden auch auf die Verwendung unterschiedlicher Formulierungen des Wirkstoffs zurückgeführt. Da auch die subchronische orale Toxizität relativ sehr niedrig liegt³, stellt Bromophos einen für Warmblüter außerordentlich wenig toxischen Phosphorsäureester dar. Weitere sehr detaillierte Angaben zur Toxizität siehe ebenfalls bei KINKEL et al.³.

Studien zum Metabolismus von Bromophos in biologischen Medien wurden mit Hilfe radioaktiv markierter Substanzen und der Gaschromatographie durchgeführt. Zum Metabolismus von ^{32}P - und ^3H -markiertem Bromophos in Ratten s. l. c.^{6,7}, zum Verhalten von ^{32}P -Bromophos an Pflanzen²; der Metabolismus in gelagertem Weizen wurde von ROWLANDS⁴ auf gaschromatographischem Wege weitgehend aufgeklärt.

1. Material und Methoden

Mit Hilfe von ^{32}P -markiertem Bromophos sollte das Verhalten dieses Wirkstoffes nach cutaner Applikation am Rind studiert werden. Die Applikation erfolgte nach dem Pour-on-Verfahren durch Aufgießen einer Wirkstofflösung mit 20 mg/kg ^{32}P -Bromophos. Die bei der Ektoparasitenbekämpfung vielfach benutzte Sprayapplikation wurde wegen der zur Verwendung kommenden relativ hohen Gesamtaktivität aus Sicherheitsgründen nicht durchgeführt.

Die in geeigneten Zeitabständen entnommenen Blut- und Milchproben wurden mit der doppelten Menge Chloroform extrahiert; Blindversuche zeigten, daß unter diesen Bedingungen Bromophos und Bromoxon zu > 95% extrahiert werden. In der Probe und einem Aliquot der organischen Phase wurde die Aktivität gemessen und dann der extrahierbare Anteil der Gesamt-

aktivität berechnet. Die in den Abb. 1 und 2 angegebenen ppm Wirkstoffgehalt im CHCl_3 -Extrakt beziehen sich auf das Molgewicht des eingesetzten ^{32}P -Bromophos.

Die Extrakte wurden anschließend im Vakuum eingengt und dünnschichtchromatographisch untersucht [Standardbedingungen⁸: Kieselgel G (Merck) 250 μ , Laufstrecke 15 cm, Laufmittel n-Hexan/Benzol/Äthanol = 30:10:3; R_f -Werte von Bromophos und Metaboliten s. l. c.⁶].

2. Ergebnisse und Diskussion

Bei systemisch wirksamen, wasserlöslichen phosphororganischen Insektiziden wird die percutane Resorption sehr stark von der Formulierung beeinflusst⁹. Es war bisher nicht bekannt, in welchem Umfange derartige physikalisch-chemische Faktoren auch bei Organophosphor-Verbindungen mit sehr geringer Wasserlöslichkeit wirksam sind; aus diesem Grunde wurden 2 Experimente mit Lösungsmittelgemischen sehr unterschiedlicher Polarität durchgeführt. Aus Abb. 1 ist jedoch ersichtlich, daß die im Blut auftretenden, percutan resorbierten ^{32}P -haltigen Substanzen nicht in sehr unterschiedlichen Konzentrationen vorhanden sind; Abb. 2 bestätigt demzufolge diese Feststellung erwartungsgemäß

Abb. 1. Pour-on-Applikation von ^{32}P -Bromophos am Rind, Aktivität im Blut.

⁵ W. PERKOW, Die Insektizide, 2. Aufl., Verlag A. Hüthig, Heidelberg 1968.

⁶ M. STIASNI, D. REHBINDER, and W. DECKERS, J. agric. Food Chem. **15**, 474 [1967].

⁷ Landwirtschaftliche Chemikalien, Cella GmbH., Ingelheim/Rhein, Bromophos-Manual 1965.

⁸ E. STAHL, Z. analyt. Chem. **234**, 1 [1968]; W. FRESSENIUS u. E. STAHL, Z. analyt. Chem. **234**, 11 [1968].

⁹ W. DEDEK u. H. SCHWARZ, Z. Naturforsch. **22b**, 702 [1967].

Abb. 2. Pour-on-Applikation von ^{32}P -Bromophos am Rind, Aktivität in der Milch.

auch für die in der Milch vorhandenen Substanzen.

Auf Grund der sehr geringen Wasserlöslichkeit von Bromophos (40 ppm)³ könnte möglicherweise eine Akkumulation des Wirkstoffs in fettreichen Geweben stattfinden, wie diese bei den insektiziden Halogenkohlenwasserstoffen allgemein bekannt ist. Im Hinblick auf den schnellen enzymatischen Abbau von Bromophos im Warmblüterorganismus, welcher auch aus den hier im folgenden beschriebenen Ergebnissen hervorgeht, dürfte diese Annahme allerdings relativ wenig wahrscheinlich sein. Wir führten entsprechende Untersuchungen in der hier zusammengefaßten Arbeit nicht durch; an Ratten wurde jedoch nach oraler Applikation von ^{32}P - und ^3H -markiertem Bromophos bereits gezeigt, daß innerhalb 24 h praktisch der gesamte Wirkstoff ausgeschieden wird und eine Akkumulation in den untersuchten Organen nicht stattfindet⁶.

Die chromatographische Analyse der CHCl_3 -Extrakte erbrachte dann das überraschende Ergebnis, daß die extrahierbare ^{32}P -Substanz in Blut und Milch praktisch vollständig aus einem Metaboliten von $R_f = 0,10 - 0,13$ besteht, während Bromophos höchstens in Spuren und Bromoxon nicht nachweisbar sind (s. Abbn. 3 und 4); die in Abb. 3 bei $R_f = 0,70 - 0,90$ sichtbaren Spuren, entsprechend einer Konzentration von $\sim 0,01$ ppm, können auf Grund des unscharfen R_f -Wertes allerdings nicht mit Sicherheit als Bromophos identifiziert werden. Die Hauptmenge ^{32}P -markierter Substanz in den Abbn. 3 und 4 mit $R_f = 0,10 - 0,13$ besteht wahrscheinlich aus Desmethylbromophos, denn nach ROWLANDS⁴

Abb. 3.

Abb. 4.

Abbn. 3 u. 4. DC-Analyse; Zeit in h. Vergleichssubstanz 1: Bromophos $R_f = 0,85 - 0,90$. Vergleichssubstanz 2: Bromoxon $R_f = 0,47 - 0,53$.

ist dieses mit CHCl_3 extrahierbar und besitzt in einem zur DC-Analyse verwendeten Laufmittelsystem, welches unserem hier benutzten sehr ähnlich ist (Petroläther an Stelle von n-Hexan) den R_f -Wert 0⁶. Dimethylthionophosphat kommt als extrahierbarer Metabolit nicht in Frage, da es nur einen äußerst geringen Verteilungskoeffizienten mit CHCl_3 bei Extraktion aus neutraler Lösung aufweist (K

$<2,2 \cdot 10^{-6}$)¹⁰. Die in den Abb. 1 und 2 angegebenen Konzentrationen an extrahierbarer ³²P-haltiger Substanz von 0,4–0,7 ppm müssen als untere Grenze betrachtet werden, da der Verteilungskoeffizient des von uns als Desmethylbromophos betrachteten Metaboliten nicht bekannt ist.

Nach Pour-on-Applikation von Bromophos in öli-ger Lösung mit der sehr hohen Dosierung von 100 mg/kg wurden von anderen Autoren⁷ am ersten und zweiten Tag nach der Behandlung in der Milch 0,11–0,13 ppm Bromophos gefunden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß nach cutaner Applikation von Bromophos am Rind in einer Dosierung von 20 mg/kg und unterschied-

licher Formulierung nicht mit toxikologisch bedenklichen Rückständen zu rechnen ist.

Es darf angenommen werden, daß auch beim Bromophos die Warmblüttoxizität der Desmethylverbindung bedeutend geringer ist als diejenige des entsprechenden Insektizids, wie auch bei zahlreichen anderen OPV allgemein bekannt ist; entsprechende Daten zur LD₅₀ von Desmethylbromophos wurden bisher nicht publiziert. Auf Grund unserer hier zusammengefaßten Ergebnisse ist eine systemische Wirksamkeit von Bromophos nach cutaner Applikation beim Rind nicht vorhanden, so daß der Wirkstoff bei minimaler Rückstandsbildung zur Ektoparasitenbekämpfung besonders geeignet ist.

Dem Direktor des Institutes für angewandte Radioaktivität der DAW, Leipzig, Herrn Prof. Dr. KOCH, danken wir für gewährte Arbeitsmöglichkeiten.

¹⁰ T. UCHIDA, W. C. DAUTERMAN, and R. D. O'BRIEN, J. agric. Food Chem. **12**, 48 [1964].

Eine einfache Methode zur Synchronisation größerer Populationen des Ciliaten *Tetrahymena pyriformis* (EHRENBERG)

ARMIN HILDEBRANDT und FRANZ DUSPIVA

Zoologisches Institut der Universität Heidelberg, Physiologischer Lehrstuhl

(Z. Naturforsch. **24 b**, 747–750 [1969]; eingegangen am 14. November 1968)

Wie viele andere Ciliatenarten, so phagocytiert auch *Tetrahymena pyriformis* Eisenpartikel. Die Phagocytose ist phasenspezifisch; Zellen in Teilungsphase nehmen kein Eisen auf. Auf diesem Verhalten beruht ein neues Ausleseverfahren zur Synchronisation größerer Populationen von *Tetrahymena pyriformis* Stamm GL bzw. HSM, das hier in Einzelheiten beschrieben wird. Der erzielte Synchroniegrad kann 70% betragen.

Die bereits bekannten Methoden zur Synchronisation von *Tetrahymena* lassen sich in 2 Gruppen einteilen. Die eine umfaßt Verfahren, die als „Schockmethoden“ bezeichnet werden können, da sie entweder durch periodisch wechselnde steile Temperaturänderungen^{1,2} oder rhythmisch wiederkehrenden Sauerstoffmangel³ in den natürlichen Ablauf des Generationscyclus modifizierend eingreifen. Es läßt

sich hierbei nicht vermeiden, daß mannigfache unerwünschte Veränderungen im Stoffwechsel, z.B. Verschiebungen in der Konzentration gewisser Metabolite, eintreten^{4–12}, welche das in einem normalen Generationscyclus ablaufende metabolische Geschehen verschleiern können.

Die andere Gruppe umfaßt „Ausleseverfahren“. Hierher gehört das Synchronisieren durch die Aus-

¹ E. ZEUTHEN u. O. H. SCHERBAUM, Calston Papers **7**, 141 [1954].

² G. M. PADILLA u. I. L. CAMERON, J. cellular comparat. Physiol. **64**, 303 [1964].

³ D. W. ROONEY u. J. J. EILER, Exp. Cell Res. **48**, 649 [1967].

⁴ J. E. BYFIELD u. O. H. SCHERBAUM, Life Sci. **5**, 2263 [1966].

⁵ S. C. CHOU u. O. H. SCHERBAUM, Exp. Cell Res. **39**, 346 [1965].

⁶ S. C. CHOU u. O. H. SCHERBAUM, Exp. Cell Res. **40**, 217 [1965].

⁷ L. E. DEBAULT u. N. R. RINGERTZ, Exp. Cell Res. **45**, 509 [1967].

⁸ M. IKEDA u. Y. WATANABE, Exp. Cell Res. **39**, 584 [1965].

⁹ Y. C. LEE u. O. H. SCHERBAUM, Biochemistry **5**, 2067 [1966].

¹⁰ T. MITA u. O. H. SCHERBAUM, J. Biochemistry [Tokyo] **58**, 130 [1965].

¹¹ O. H. SCHERBAUM, Exp. Cell Res. **13**, 24 [1957].

¹² E. ZEUTHEN, O. H. SCHERBAUM u. K. P. PLESNER, in: E. ZEUTHEN (Hrsg.): „Synchrony in cell division and growth“. Interscience Publishers, New York 1964, S. 99 und 177.