Schnelldiagnostik von Metaboliten des Methaqualon und der Chlordiazepoxid-Gruppe im Urin

VON MARIKA GELDMACHER-V. MALLINCKRODT UND U. MANG

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg

(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

(Eingegangen am 23. Februar 1970)

Durch einfaches Kochen mit 5—6N HCl ist es möglich, innerhalb von 6 Min. (statt bisher 20—180 Min.) Konjugate der Methaqualongruppe (Revonal, Mecloqualone) und der Chlordiazepoxid-Gruppe (Librium, Valium, Adumbran, Nobrium, Tranxilium) im Urin zu zerlegen. Nach Neutralisation und Extraktion mit Äther kann dadurch bei Vergiftungsverdacht sehr schnell eine dünnschichtchromatographische Untersuchung erfolgen.

The rapid detection of metabolites of methaqualone and the chlordiazepoxide group in urine

Conjugates of the methaqualone group (Revonal, Mecloqualone) and the chlordiazepoxide group (Librium, Valium, Adumbran, Nobrium, Tranxilium) in the urine are hydrolysed within six min. by boiling with 5—6N HCl. In suspected poisoning, the hydrolysis products may be rapidly investigated by thin layer chromatography after neutralisation and extraction with ether.

Für eine große Anzahl von Verbindungen, die akzidentell oder in suizidaler Absicht eingenommen werden, stehen Gruppen- bzw. Schnellreaktionen zur Verfügung, die bei unsicherer Diagnose eine Klärung erlauben. Als Beispiel sei genannt die Reaktion nach CRONHEIM und WARE (1) auf basische Verbindungen, die eine ausgezeichnete Gruppenreaktion darstellt (2). Hierhin zu rechnen sind auch rasch durchführbare dünnschichtchromatographische Untersuchungen nach Extraktion von Urinproben im sauren und alkalischen Milieu, die von zahlreichen Autoren angegeben wurden. Voraussetzung für die meisten dieser Verfahren ist, daß die nachzuweisende Verbindung in freier Form im Urin vorliegt. Bei einer Anzahl von Medikamenten machen aber Konjugate einen größeren Anteil der im Urin ausgeschiedenen Metaboliten aus. Diese sind oft aufgrund ihrer großen Wasserlöslichkeit nicht in organische Lösungsmittel extrahierbar und entziehen sich so dem direkten Nachweis durch die genannten Verfahren. Für ihre analytische Erfassung ist eine Spaltung der Konjugate entweder enzymatisch (Glucuronidase, Sulfatase) oder mittels Säurehydrolyse erforderlich. Enzymatische Verfahren kommen aufgrund des großen Zeitbedarfes für eine Schnellreaktion nicht in Betracht. Für die Säurehydrolyse von Konjugaten werden in der Literatur unterschiedliche Säurekonzentrationen vorgeschlagen. Als Hydrolysedauer wird häufig 1 Std. angegeben. Damit zögert die Notwendigkeit eines Hydrolyseschrittes das Endergebnis erheblich hinaus. Wie die systematischen Untersuchungen über die Hydrolyse von *p*-Nitrophenol-Konjugaten im Urin gezeigt haben (3), ist es u. U. möglich, durch Änderung der Hydrolysebedingungen die Hydrolysezeit wesentlich zu verkürzen.

In unserer analytischen Praxis spielt häufig die Frage nach einer Aufnahme von Methaqualon (Revonal,

2-Methyl-3-o-tolyl-(3H)-chinazolin-4-on) oder Angehörigen der Chlordiazepoxidgruppe, nämlich

Chlordiazepoxid (Librium, 7-Chlor-2-methylamino-5-phenyl-3H-1,4-benzodiazepin-4-oxid)

Diazepam (Valium, 7-Chlor-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-on)

Oxazepam (Adumbran, 7-Chlor-1,3-dihydro-3-hydroxy-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-on)

Medazepam (Nobrium, 7-Chlor-2,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin)

Dikaliumchlorazepat (Tranxilium, Dikalium-7-chlor-2,2-dihydro-5-phenyl-3-carboxy-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin)

(zu der auch Prazepam (7-Chlor-1-(cyclopropylmethyl)-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin-2 (3H)-on (DICARLO und Mitarbeiter (4)) gehören dürfte),

eine Rolle.

Suicide durch Einnahme einer Überdosis von Methaqualon sind in größerer Zahl beschrieben (z. B. 5—7). Tödliche Vergiftungen allein durch Angehörige der 1,4-Benzodiazepine sind uns bisher nicht bekannt geworden, doch werden überlebte Suicidversuche beschrieben (8). Außerdem werden sie oft in Überdosis, auch in Kombination z. B. mit Sedativa eingenommen.

Methaqualon

Methaqualon wird nach oraler Gabe rasch resorbiert. Bis zu 80% der verabreichten Dosis werden beim Menschen relativ schnell im Urin ausgeschieden (9). Es liegen mehrere Untersuchungen über den Stoffwechsel von Methaqualon beim Menschen vor

(9–13). Danach wird bei therapeutischer Dosierung nur wenig freies Methaqualon im Urin ausgeschieden. Es konnten bis zu 12 Ausscheidungsprodukte, weitgehend Hydroxyderivate, isoliert werden, die zu einem großen Anteil als Konjugate, meist mit Glucuronsäure, vorlagen. Durch enzymatische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß auch Sulfatbindung stattfindet (12).

Während einige Autoren (10, 14) Harn nach Revonalaufnahme ohne vorhergehende Hydrolyse im alkalischen Milieu extrahierten, stellten viele Autoren einen Hydrolyseschritt mit Salzsäure vor die Extraktion (9, 12, 13, 15, 16). Die Salzsäurekonzentration lag dabei zwischen pH 1 und 5–6N, die Temperatur zwischen 80° und 120°, die Hydrolysedauer zwischen 15 Min. und 12 Stdn.

Methaqualon ist unter solchen Bedingungen stabil (9).

Zur Extraktion der Metaboliten nach der Hydrolyse arbeiten einige der Autoren im schwach sauren (pH 5–6), einige im schwach alkalischen (pH 8–10) Milieu unter Verwendung von Äther, Chloroform oder Essigester.

Chlordiazepoxid-Gruppe

Der Stoffwechsel der einzelnen Verbindungen der Chlordiazepoxid-Gruppe ist auch beim Menschen eng miteinander verflochten. Es entstehen zahlreiche ähnliche, oft identische Metabolite, bei denen es sich zum Teil sogar um einen anderen Wirkstoff der Gruppe handelt. Die unveränderten Wirkstoffe werden nur in geringer Menge im Urin ausgeschieden, ein größerer Anteil der Metabolite liegt in Form von Glucuroniden vor (4, 8, 17–29).

Analytisch von Bedeutung ist, daß Valium und einige seiner Metabolite beim Erhitzen mit konzentrierter Säure 2-Methylamino-5-chlorbenzophenon liefern, andere Valium-Metaboliten dagegen sowie die anderen Wirkstoffe der Gruppe und deren Stoffwechselprodukte 2-Amino-5-chlorbenzophenon. Die analytisch gut erfaßbaren Benzophenone bilden sich offenbar nur dann nicht, wenn der 7-Ring der 1,4-Benzodiazepine völlig hydriert ist (22).

Einige Autoren (21, 30) verzichten bei der Untersuchung der Metaboliten auf die Spaltung der Konjugate, was die Metabolitenausbeute verringert (8), einige verwenden Glucuronidase und Sulfatase, die meisten jedoch führen eine Spaltung durch Erhitzen des Urins mit Salzsäure durch, wobei gleichzeitig Umwandlung praktisch aller im Ansatz enthaltenen Metaboliten in die beiden Benzophenone erfolgt (siehe z. B. 8, 17–19, 27–29). Die HCl-Konzentration lag dabei zwischen pH 4 und 4N, die Temperatur um 100°, die Hydrolysedauer zwischen 20 Min. und 2 Stdn.

Die Extraktion der Benzophenone erfolgte im sauren (bis 3N HCl) oder alkalischen (bis 0,5N NaOH) Milieu mit Äther oder Chloroform.

Schon BÄUMLER und RIPPSTEIN (17) weisen darauf hin, daß zum qualitativen Nachweis einer Libriumaufnahme ein kurzes Erhitzen des Harnes mit Salzsäure genügt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, zu prüfen, ob die Hydrolysezeit bei mindestens gleicher Ausbeute an Metaboliten des Methaqualon und Chlordiazepoxid bzw. Dikaliumchlorazepat (als Modellsubstanzen für diese Gruppe) erheblich verkürzt werden kann.

Eigene Untersuchungen

Methaqualon

Als Untersuchungsmaterial diente der Harn von Patienten, die Überdosen Revonal eingenommen hatten. Durch direkte Extraktion im sauren Milieu mit Äther und anschließende dünn- und papierchromatographische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß freies Revonal bzw. freie Metabolite nur in geringer Menge ausgeschieden wurden.

Als Vergleich für unsere Hydrolyseversuche dienten Hydrolysebedingungen, wie sie seit längerer Zeit in unserem Institut für die Freisetzung von Revonalmetaboliten in Gebrauch waren: 10 ml Harn wurden mit 25 ml conc. HCl 1 Std. am Rückflußkühler erhitzt, sodann mit NaOH-Plätzchen auf pH 6 gebracht und zweimal mit 100 ml Äther extrahiert. Die vereinigten Äther-

extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet, der Äther auf dem Wasserbad abgedampft und Anteile hiervon auf Kieselgel-F-Platten DC (Woelm) aufgetragen. Als Laufmittel diente Äther (vgl. auch 13). Hierbei zeigten sich bei Detektion durch Betrachten unter der UV-Lampe sowie Besprühen mit Dragendorff-Reagenz 3 Fraktionen, die nach Abkratzen der Sorptionsschicht und Elution mit Boratpuffer pH 10 die für Revonal-Metaboliten typischen UV-Absorptionskurven mit Maxima bei 225 nm und 263 nm ergaben.

Bei den weiteren Untersuchungen wurden die den Metaboliten entsprechenden Zonen der Dünnschichtplatten gemeinsam eluiert. Die quantitative Auswertung erfolgte aufgrund der Extinktionen bei 225 und 263 nm anhand einer Methaqualon-Eichkurve in Boratpuffer pH 10, wobei berücksichtigt werden muß, daß hiermit nur angenäherte Werte erhalten werden, da die einzelnen Metabolite geringfügig abweichende Extinktionsmaxima und nicht die gleichen molaren Extinktionskoeffizienten aufweisen wie unverändertes Revonal (16).

Die Konzentration an Methaqualon-Metaboliten, nach dem Vergleichsverfahren bestimmt, betrug in den untersuchten Harnen zwischen 10 und 90 mg/100 ml. Verkürzung der Hydrolysezeit auf 15 Min. unter sonst gleichen Bedingungen ergab die gleiche Ausbeute wie bei 60 Min.

Weitere Untersuchungen wurden durchgeführt mit je 5 ml Urin, 35 ml Wasser und 20 bzw. 35 ml conc. Salzsäure. Diese Gemische wurden 2,4 und 6 Min. in einem 300-ml-Erlenmeyerkolben auf einer Asbestplatte über einem Bunsenbrenner gekocht, wobei die Anheizzeit etwa 1½ Min. betrug. Das Volumen verminderte sich hierbei auf etwa 50 ml. Dabei stellt sich sehr schnell die HCl-Konzentration des azeotropen Gemisches (20%, etwa 5,5N) mit einem Siedepunkt von 110° ein. Die anderen Bedingungen waren wie bei der Vergleichsanalyse beschrieben.

Es ergab sich, daß bei Verwendung von 20 ml conc. HCl und einer Kochzeit von 6 Min. die Methaqualon-Metabolitenausbeute etwa doppelt so hoch war wie bei der Vergleichsanalyse. Bei der Verwendung von 35 ml conc. HCl und 6 Min. Kochzeit lagen die Ausbeuten nur geringfügig unter diesem Wert.

Chlordiazepoxid-Gruppe

Chlordiazepoxid

Zur Analyse gelangten Urinproben von Patienten, die eine mehr als therapeutische Dosis von Librium aufgenommen hatten.

Um einen Bezugswert zu erhalten, wurden nach BÄUMLER und RIPPSTEIN (17) 20 ml Urin mit 10 ml conc. HCl 2 Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit festem Ätznatron auf pH 6 gebracht, sodann mit 2 × 100 ml Äther ausgeschüttelt und der ätherische Auszug nach Trocknen mit Na₂SO₄ eingedampft. Der Rückstand wurde in 0,5 ml Äthanol aufgenommen und Anteile auf Kieselgel-F-Platten DC (Woelm) aufgetragen. Als Laufmittel verwendeten wir Dioxan-Benzol-Hexan-conc. NH₃ = 45:50:70:5 (v/v) (31). Hierbei konnte eine gelbe Fraktion mit dem R_F-Wert von 2-Amino-5-chlorbenzophenon (etwa 0,62) festgestellt werden, die nach Elution mit Benzol eine Absorptionskurve mit einem Maximum bei 383 nm ergab. Die Konzentration, ermittelt aufgrund einer 2-Amino-5-chlorbenzophenon-Eichkurve in Benzol, lag unter diesen Hydrolysebedingungen in den untersuchten Proben zwischen 0,55 und 2,2 mg/100 ml.

Bei Verkürzen der Hydrolysezeit auf 15 Min. wurde die gleiche Ausbeute erhalten.

Sodann wurde unter den gleichen Bedingungen wie bei Methaqualon beschrieben hydrolysiert. Es zeigte sich, daß nach einer Kochzeit von 6 Min. und Verwendung von 20 ml conc. HCl die Ausbeute an 2-Amino-5-chlorbenzophenon etwa der bisher genannten entsprach. Verwendung von 35 ml conc. HCl erhöhte die Ausbeute um etwa 25%.

Dikaliumchlorazepat

In einer Urinprobe bei Tranxilium-Therapie konnten nach l. c. (17) 0,25 mg/100 ml 2-Amino-5-chlorbenzophenon, bei Einsatz von 5 ml Urin, 35 ml H₂O und 35 ml conc. HCl und einer Kochzeit von 6 Min. 0,35 mg/100 ml festgestellt werden.

Precision Richtigkeit Identifizierung

in der klinischen Chemie durch Automatisierung

von der Probendosierung bis zum Ausdrucken von Probennummer und Analyseergebnis.

Der **ANALYSENAUTOMAT C4** mißt photometrisch Glucose, Bilirubin, Harnstoff-N, Kreatinin, Cholesterin, Total-Protein, GOT, GPT, Phosphatase-S, Phosphatase alk., Harnsäure, Chlorid, Phosphor, Serum-Eisen, CPK, LDH, Albumin, sowie mit dem Flammenphotometer auch Kalium und Natrium.

120 Analysen pro Stunde. Bis zu vier Bestimmungen aus einer Probe. Automatischer Abgleich auf Reagenzien- und Serumleerwert. Probenidentifizierung und Auswertung auch auf Blattschreiber oder mit Datenverarbeitungssystem.

Neben dem Vierkanal-Analysenautomat C4 liefern wir für die klinische Chemie auch **UV-SPEKTROPHOTOMETER** und **SPEKTROPHOTO-FLUORIMETER** sowie **ATOM-ABSORPTIONS-SPEKTROPHOTOMETER** für Routinemessungen von Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, u. a. in Körperflüssigkeiten.

Atom-Absorptions-Spektrophotometer mit der neuartigen Boot-Technik zur Direktbestimmung von Pb, Tl, As, Hg u. a. in Urin oder Blut.

BODENSEEWERK PERKIN-ELMER & CO GMBH

Vertrieb Klinische Chemie, 6 Frankfurt, Schöne Aussicht 16
Tel. (06 11) 28 34 87, Telex 0411827

Buddecke

Grundriß der Biochemie

für Studierende der Medizin, Zahnmedizin und Naturwissenschaften

Von Prof. Dr. ECKHART BUDDECKE

Mit mehr als 400 Formeln, Tabellen und Diagrammen

XXXII, 499 Seiten. 1970. Plastik flexibel DM 27,50

Die progressive Zunahme des biochemischen Fachwissens erfordert eine überschaubare und zusammenfassende Darstellung der Biochemie als Hilfsmittel für den Unterricht. Der Grundriß der Biochemie von E. Buddecke gliedert den Wissensstoff in die Kapitel „Stoffe und Stoffwechsel“, „Stoffwechselregulation“ und „Funktionelle Biochemie der Organe und Gewebe“ mit dem Ziel, durch knappe Darstellung gesicherter Fakten und gezielte Stoffauswahl dem Leser einerseits eine rasche Information zu bieten, andererseits jedoch auf die vielfältigen Beziehungen und Anwendungsmöglichkeiten der Biochemie zur klinischen Chemie und Molekularpathologie hinzuweisen, um damit dem Studierenden der Medizin und Zahnmedizin sowie der anderen Gebiete der Naturwissenschaften das Verständnis klinischen Fachwissens zu erleichtern.

Inhaltsübersicht

Stoffe und Stoffwechsel

Chemische Zusammensetzung und Stoffwechsel der Zelle · Der Stoffwechsel als chemische Reaktionsfolge
Enzyme · Coenzyme · Aminosäuren · Nucleinsäuren
Proteine · Glucose und Kohlenhydrate · Lipide · Citratzyklus und biologische Oxydation · Porphyrine · Wasserhaushalt · Mineralhaushalt

Stoffwechselregulation

Selbstregulation durch Rückkopplung · Regulation durch Metabolitkonzentrationen · Enzymkonkurrenz
Hormone

Einführung · Glanduläre Hormone · Gewebshormone

Vitamine

Definition und Klassifizierung · Vitamine mit Coenzymfunktion · Vitamine ohne Coenzymfunktion · Vitaminähnliche Wirkstoffe

Funktionelle Biochemie der Organe und Gewebe

Biochemie der Zelle · Blut · Leber · Verdauung und Resorption · Niere und Urin · Muskel · Nervengewebe
Binde- und Stützgewebe · Wachstum und Abwehr

Walter de Gruyter & Co · Berlin 30

Obwohl unter unseren Bedingungen ein erhebliches Volumen an Salzsäure abdestillierte und 2-Amino-5-chlor-benzophenon wasserdampflich ist (28), wurden also höhere Benzophenon-Ausbeuten erreicht als bei längeren Hydrolysezeiten im geschlossenen System unter Verwendung eines Rückflußkühlers.

Aus unseren Untersuchungen ergibt sich, daß zur schnellen gemeinsamen qualitativen Prüfung auf die Aufnahme von Methaqualon oder Angehörigen der Chlordiazepoxid-Gruppe die folgenden Bedingungen geeignet sind, die mindestens gleiche Metabolitenausbeute liefern, wie die Vergleichsverfahren mit längerer Hydrolysedauer:

Arbeitsvorschrift zur gleichzeitigen Prüfung auf Metabolite des Methaqualon und der Chlordiazepoxid-Gruppe im Urin

Reagenzien und Arbeitsmaterial

Hydrolyse

HCl, conc. (36proz.)
Ätznatron-Plättchen
Natriumsulfat, fest
Äther
Äthanol

Dünnschichtchromatographische Untersuchung

Sorptionsmittel: Kieselgel F DC (Woelm)

1. Methaqualon

Laufmittel: Äther; Laufzeit 30 Min.
Detektion: Dragendorff-Reagenz
Lösung a: 0,35 g basisches Wismutnitrat in 10 ml Eisessig + 40 ml Wasser
Lösung b: 8 g Kaliumjodid in 20 ml Wasser
Vorratslösung: Gleiche Teile der Lösungen a und b (in dunkler Flasche gut haltbar)
Sprühlösung: 1 ml Vorratslösung
2 ml Eisessig
10 ml Wasser

2. Chlordiazepoxid-Gruppe

Herstellung der Testsubstanzen (31):

Je etwa 50 mg Librium und Valium werden mit 10 ml Wasser und 25 ml conc. HCl 1 Std. am Rückflußkühler gekocht. Anschließend wird mit Ätznatron schwach alkalisch gemacht, und zweimal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt. Die Ätherextrakte werden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, und nach Filtration auf dem Wasserbad vom Lösungsmittel befreit.

Reaktionsprodukt von

Librium: 2-Amino-5-chlorbenzophenon

Valium: 2-Methylamino-5-chlorbenzophenon

Laufmittel: Dioxan-Benzol-Hexan-conc. $\text{NH}_3 = 45:50:70:5$ (31); untere Phase verwerfen (notfalls Benzol (17))
Laufzeit 30 Min.

Detektion: Besprühen mit

- frisch hergestellter Lösung von Natriumnitrit (1 Spatelspitze) in 10 ml 6proz. HCl
- Lösung von 1 Spatelspitze β -Naphthol in 20 ml NaOH (10proz.)

Spektrophotometrische Untersuchung

Boratpuffer pH 10

Benzol

Arbeitsgang

10 ml Urin werden mit 70 ml Wasser und 70 ml conc. Salzsäure in einem 300-ml-Erlenmeyerkolben auf einem Asbestnetz über der Bunsenflamme 6 Min. gekocht. Nach dem Abkühlen wird durch Zugabe von festem Ätznatron auf pH 6—7 gebracht. Sodann wird die abgekühlte Lösung zweimal mit 100 ml Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte werden mit festem Natriumsulfat getrocknet und der Äther auf dem Wasserbad entfernt. Der Rückstand wird mit 0,5 ml Äthanol aufgenommen.

Prüfung auf Methaqualon

Aliquote Teile der äthanolischen Lösung, z. B. zweimal je $\frac{1}{4}$ werden auf 2 Startstellen einer Kieselgel-F-Platte aufgetragen und mit Äther entwickelt. Die Detektion erfolgt durch Betrachten unter der UV-Lampe (Fluoreszenzlösung) sowie Besprühen des Bereiches über einem Startfleck mit Dragendorff-Reagenz. Bei Ausscheidung von Methaqualon-Metaboliten zeigen sich mehrere orange gefärbte Fraktionen mit R_F -Werten von etwa 0,30, 0,49 und 0,59. Nachweisgrenze 1 μg .

Von dem unbesprühten Anteil der Platte wird das Sorptionsmittel mit der durch Detektion sichergestellten Fraktion mit dem Spatel abgekratzt, und zusammen mit wenig, z. B. 3—5 ml Boratpuffer (pH 10) 10 Min. eluiert. Sodann wird zentrifugiert, und in der überstehenden Lösung die UV-Absorptionskurve, zweckmäßig mit einem selbstregistrierenden Spektralphotometer, aufgenommen (Vergleichsküvette: Boratpuffer pH 10). Die Hauptmaxima der Revonalmetaboliten liegen bei 225 und 263 nm, weitere Maxima bei 315 und 293 nm.

Eine angenäherte quantitative Auswertung erfolgt anhand einer Methaqualon-Eichkurve aufgrund der Maxima bei 225 oder 263 nm, je nach Konzentration.

Chlordiazepoxid-Gruppe

Die Anwesenheit der beiden Benzophenone kann oft schon bei der oben genannten Prüfung auf Methaqualon-Metaboliten durch gelb gefärbte Fraktionen mit R_F -Werten von 0,68 (2-Amino-5-chlor-benzophenon) und 0,74 (2-Methylamino-5-chlor-benzophenon) erkannt werden. Unter diesen Bedingungen können aber Verunreinigungen aus dem Harn täuschen, die sich teilweise auch mit Natriumnitrit/ β -Naphthol rot anfärben. Deshalb ist grundsätzlich eine getrennte Untersuchung vorzuziehen:

Aliquote Anteile der äthanolischen Extraktlösung (z. B. zweimal je $\frac{1}{4}$), werden auf eine Kieselgel-F-Platte aufgetragen und mit dem angegebenen Laufmittelgemisch (31) entwickelt. Man erkennt bei Vorliegen größerer Mengen von Benzophenonen gelbgefärbte Fraktionen mit R_F -Werten von 0,62 (2-Amino-5-chlor-benzophenon) bzw. 0,74 (2-Methylamino-5-chlor-benzophenon). Diese Fraktionen können abgekratzt, 10 Min. mit Benzol eluiert, und im sichtbaren Bereich spektrophotometrisch untersucht werden (Vergleichsküvette: Benzol). Die UV-

Absorptionskurven weisen ausgeprägte Maxima bei 383 nm (2-Amino-5-chlor-benzophenon) bzw. 408 nm (2-Methylamino-5-chlor-benzophenon) auf. Die quantitative Auswertung erfolgt aufgrund entsprechender Eichkurven in Benzol.

Eine spektrophotometrische Auswertung ist noch bis etwa 8–10 µg Benzophenon pro Startfleck möglich. Bei Vorliegen geringerer Mengen (etwa <5 µg pro Startfleck) kann die Gelbfärbung nicht mehr zur Detektion herangezogen werden. Die Detektion von 2-Amino-5-chlor-benzophenon ist auf der Platte empfindlicher möglich durch Besprühen mit NaNO₂/β-Naphthol (Rotfärbung; Nachweisgrenze 1–2 µg). 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon entfärbt sich bei diesem Vorgehen.

Bei der Bewertung ist zu berücksichtigen, daß bei Aufnahme von Chlordiazepoxid die Halbwertszeit für die Ausscheidung im Urin 3–3,5 Tage beträgt (8, 21, 30), und die maximale Urinausscheidung erst 24–36 Std. nach der Einnahme liegt. Das Ausscheidungsmaximum

für Diazepam-Metaboliten liegt etwa 8–16 Std. nach oraler Aufnahme (20). Für Oxazepam wurde bei oraler und rektaler Gabe das Ausscheidungsmaximum im Urin etwa nach 4–6 Std. gefunden (26). Für Medazepam bzw. seine Metaboliten betrug die Halbwertszeit für die Ausscheidung im Urin zwischen 33 und 83 Std. Hohe Urinkonzentrationen werden schon in den ersten 24 Std. erreicht, das Maximum lag bei oraler Einnahme 24–48 Std. nach der Gabe (25).

Eine Aufnahme des der Chlordiazepoxid-Gruppe verwandten Nitrazepams (Mogadan, 1,3-Dihydro-7-nitro-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin) war mit dem beschriebenen Verfahren nicht immer sicher zu erfassen. Der *R_F*-Wert des entsprechenden Benzophenons beträgt in dem genannten Laufmittelgemisch etwa 0,20, das UV-Maximum in Benzol liegt bei 348 nm (31).

Die Prüfung auf Methaqualon dürfte auch bei Aufnahme des chemisch sehr nahe verwandten Mecloqualone (32) positiv ausfallen.

Literatur

1. CRONHEIM, G. und P. A. WARE, J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore 92, 98 (1948). — 2. BURGER, E. und H. BERNINGER, Acta med. leg. Bruxelles XVIII, 11 (1965). — 3. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT, M. und K. DEINZER, diese Z. 4, 81 (1966). — 4. DICARLO, F. J., M. C. CREW, M. D. MELGAR und L. J. HAYNES, J. Pharm. Sci. 58, 960 (1969). — 5. IBE, K., Arch. Toxikol. 21, 179 (1965). — 6. IBE, K., Arch. Toxikol. 21, 289 (1966). — 7. IBE, K., Arch. Toxikol. 22, 16 (1966). — 8. PRIBILLA, O., Arzneimittelforsch. Aulendorf 14, 723 (1964). — 9. KÜHN, R. A. und E. KEIL, Therap. Gegenw. 11, 574 (1961). — 10. EBERHARDT, H., K. J. FREUNDT und J. W. LANGBEIN, Arzneimittelforsch. Aulendorf 12, 1087 (1962). — 11. BEYER, K. H. und D. KLINGE, diese Z. 2, 126 (1964). — 12. BEYER, K. H. Mitteilungen der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft und der Pharmazeutischen Gesellschaft der DDR, 35, 69 (1965). — 13. PREUSS, FR. R., H. M. HASSLER und R. KÖPF, Arzneimittelforsch. Aulendorf 16, 395, 401 (1966). — 14. AKAGI, M., Y. OKETANI und M. TAKADA, Chem. Pharm. Bull. Japan 11, 62 (1963). — 15. COHEN, Y., J. WEPIERRE, Y. FONT DU PICARD und J. R. BOISSIER, Thérapie, Paris 20, 101 (1965). — 16. NOWAK, R., G. SCHORRE und R. STRULLER, Arzneimittelforsch. Aulendorf 16, 407 (1966). — 17. BÄUMLER, J. und S. RIPPSTEIN, Helv. chim. Acta 44, 2208 (1961). — 18. IM OBERSTEG, J. und J. BÄUMLER, München. med. Wschr. 106, 969 (1964). — 19. WALKENSTEIN, S. S., R. WISER, C. H. GUDMUNDSEN, H. B. KIMMEL und R. A. CORRADO, J. Pharm. Sci. 53, 10 (1964). — 20. SCHWARTZ, M. A., B. A. KOEHLIN, E. POSTMA, S. PALMER und G. KROL, J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore 149, 423 (1965). — 21. KOEHLIN, B. A., M. A. SCHWARTZ, G. KROL und W. OBERHANSLI, J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore 148, 399 (1965). — 22. DE SILVA, J. A. F., B. A. KOEHLIN und G. BADER, J. Pharm. Sci. 55, 692 (1966). — 23. SCHWARTZ, M. A. und E. POSTMA, J. Pharm. Sci. 55, 1358 (1966). — 24. BEYER, K. H. und W. SADEÉ, Vortrag gehalten auf: XXI. Internationalen Kongreß für Reine und Angewandte Chemie in Prag vom 4.–10. 9. 67. — 25. RIEDER, J. und G. RENTSCH, Arzneimittelforsch. Aulendorf 18, 1545 (1968). — 26. WEIST, F. R., Arzneimittelforsch. Aulendorf 18, 87 (1968). — 27. GROS, P. und R. RAVEUX, Chim. Thérap. 4, 312 (1969). — 28. KAMM, G. und R. KERM, Arzneimittelforsch. Aulendorf 19, 1659 (1969). — 29. PELZER, H. und D. MAASS, Arzneimittelforsch. Aulendorf 19, 1652 (1969). — 30. SMYTH, D. und G. W. PENNINGTON, Arch. Internat. Pharmacodyn. Therap. 145, 154 (1963). — 31. BEYER, K. H. Vortrag auf dem 2. Europäischen Kongreß der Zentren zur Bekämpfung von Vergiftungen am 19. 8. 1966 in Kopenhagen. — 32. DUBNIK, B., C. A. TWONE und M. T. BUSH, Toxicol. Appl. Pharmacol. 15, 632 (1969).

Priv.-Doz. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
8520 Erlangen
Universitätsstraße 22