

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. med. V. MÜLLER-HESS).

Beiträge zur Untersuchung von Urin auf Suchtmittel.

Von
ERNST VIDIC.

Dem neugegründeten Westberliner Institut für gerichtliche und soziale Medizin obliegt die Durchführung sämtlicher Kontrolluntersuchungen der in ganz Westberlin ansässigen Süchtigen und suchtv Verdächtigen Personen. Dadurch ist die toxikologische Abteilung des Institutes vor die Aufgabe gestellt, täglich bis zu 20—25 chemische Untersuchungen von Urinproben vorzunehmen. Fast alle Urinproben müssen nicht nur auf Opiate und deren Derivate, sondern auch auf die synthetischen Analgetica, Dolantin, Polamidon und neuerdings auch noch Cliradon geprüft werden. Bei einer etwas kleineren Zahl der Urine ist auch nach Pervitin zu fahnden.

Es ist nun verständlich, daß diese Aufgabe nicht durch Anwendung der herkömmlichen, recht zeitraubenden chemisch-toxikologischen Identifizierungsverfahren zu lösen war, sondern nur durch Schaffung einer neuen Untersuchungsmethodik. Es wurden daher Schnellmethoden entwickelt, welche bereits geringste Mengen bestimmter Suchtmittel anzeigten und deren negativer Ausfall es gestattete, die untersuchte Urinprobe von einer weiteren Untersuchung auszuschließen und einen negativen Befund zu erheben. Zeigte das Kurzverfahren positive oder auch nur verdächtige Befunde an, dann war eine eingehende Überprüfung nach den bewährten Identifizierungsmethoden (Mikrosublimation, Mikroschmelzpunktbestimmung, Farben- und Mikrokristallfällungsreaktionen) vorzunehmen.

Nach den zur Anwendung kommenden Schnellverfahren zerfällt die chemische Untersuchung in 3 Gruppen: I. Die Gruppe der Opiate und deren Derivate, sowie Cocain. II. Die Gruppe der vollsynthetischen Analgetica, Polamidon, Dolantin und Cliradon. III. Die Gruppe der Weckamine, hauptsächlich Pervitin.

I. Opiate und deren Derivate.

Als Vorprobe kam bei dieser Gruppe zunächst das bekannte nephelometrische Kurzverfahren von DECKERT in Betracht. Dieses hat sich bei der Vorprüfung auf Morphin infolge seiner großen Empfindlichkeit gut bewährt.

In einer früheren Arbeit des Verfassers wurde bereits nachgewiesen, daß die Morphinfällung durch Polamidon und Dolantin bis zu 300 γ je 10 cm³ Urin nicht gestört wird, wenn die Vorfällung mit Ammoniummolybdat richtig ausgeführt wird. Neuerdings wurde festgestellt, daß

auch Cliradon bei weit über 300 $\gamma/10 \text{ cm}^3$ Urin liegenden Gehalten weitgehend durch Molybdat abgeschieden und durch Vanadat nicht gefällt wird, so daß eine Vortäuschung von Morphin nicht zu befürchten ist.

Bei besonders hohen Polamidon- und Dolantingehalten, sowie bei Anwesenheit basischer Arzneistoffe, wird vor der Prüfung nach DECKERT eine Ausschüttelung des mit Natronlauge alkalisierten Urines vorgenommen, wodurch die genannten Stoffe von Morphin getrennt werden.

Was nun den Nachweis bzw. die Anzeige der übrigen Opiate anbelangt, so war auf Grund der herrschenden, recht uneinheitlichen Anschauungen und eigener Erfahrungen eine eingehende Überprüfung des Verhaltens dieser Alkaloide bei Anwendung der DECKERTSchen Methode unbedingt erforderlich. Es wurden daher systematische Reihenversuche vorgenommen, um die Grenzen des Nachweises festzustellen.

Dilaudid reagiert nach DECKERT ähnlich wie Morphin, doch ist die Empfindlichkeit etwas geringer (Erfassungsgrenze 20—25 γ bei Prüfung von 10 cm^3 Urin).

Cocain wird bei den in Betracht kommenden Konzentrationen weder durch Molybdat, noch durch Vanadat gefällt, so daß es im allgemeinen nach DECKERT nicht angezeigt wird.

Eukodal, *Dicodid*, *Codein* und *Acedicon* werden unterhalb 70—80 γ je 10 cm^3 Urin kaum wesentlich durch Molybdat abgeschieden und innerhalb dieses Konzentrationsbereiches — bis auf die ein wenig größere Empfindlichkeit des Dicodids — auch durch zusätzliches Vanadat *nicht* niedergeschlagen. Erst bei höheren Opiatgehalten entstehen schwache Trübungen, doch ist deren Auftreten unsicher, da das Alkaloid dann schon durch Molybdat zum Teil ausgefällt wird.

Papaverin und *Narcotin* werden schon verhältnismäßig leicht durch Molybdat niedergeschlagen, so daß mit Vanadat kaum noch wesentliche Trübungen eintreten. Durch *Narcotin* hervorgerufene Trübungen werden erheblich rascher gebildet, als dies beim Morphin der Fall ist.

Das DECKERTSche Schnellverfahren ist praktisch somit nur für die Anzeige von Morphin und Dilaudid brauchbar, während die anderen Opiate gerade innerhalb jenes Bereiches geringerer Konzentrationen, welcher für die laufende Urinkontrolle der Suchtverdächtigen am allerwichtigsten ist, keineswegs erfaßt werden. Erfahrungsgemäß wenden ja versierte Süchtige alle Mittel an, um den Opiatgehalt im Urin möglichst herabzudrücken.

Der Verfasser hatte sich daher die Aufgabe gestellt, diese Lücken bei den Vorproben durch ein neues Kurzverfahren auszufüllen. Unter den vielen Alkaloidfällungsmitteln, welche für Trübungsreaktionen mit den Opiaten in Frage kommen, haben sich bei den systematischen Versuchen die Halogene Brom und Jod als am besten geeignet erwiesen. Die Einzelheiten über die Versuchsdurchführung und Auffindung der günstigsten

Reaktionsbedingungen können hier nicht wiedergegeben werden, es sei nur darauf hingewiesen, daß es gelungen ist, jene Bedingungen zu finden, unter denen es möglich war, jede noch so geringe Trübungsreaktion mit opiat- und alkaloidfreien Urinen zu vermeiden. Dadurch war es möglich geworden, auch schwach positive Ergebnisse von den Leerwerten, d. h. den negativen Befunden, mit Sicherheit zu unterscheiden. Erfreulicherweise konnten durch die ermittelten Reaktionsbedingungen auch die Reaktionen mit den meisten Arzneistoffen soweit beeinflußt werden, daß kaum noch ähnliche Trübungen wie bei den Opiaten zu verzeichnen waren. Der spezifische Wert der Methode konnte also wesentlich gesteigert werden.

Um die Durchführung des Schnellverfahrens nach Möglichkeit zu vereinfachen und abzukürzen, wurde es in seinem ersten Teil mit der Prüfung nach DECKERT gekoppelt, so daß mit einem minimalen Mehraufwand an Zeit fast gleichzeitig zwei Vorprüfungen vorgenommen werden, wobei zuverlässig die ganze Gruppe der Opiate und Derivate erfaßt wird.

Je nach der zur Verfügung stehenden Urinmenge kann die Vornahme der Halogenprobe in zweifacher Art erfolgen. Bei der Verwendung von nur 10 cm³ Urin kann durch Zusatz beider Halogene hintereinander ein allgemeiner Hinweis auf einen Opiatgehalt erlangt werden, während bei der doppelten Ausführung der Probe mit 20 cm³ Urin durch die zusätzliche Reaktion mit Jodlösung allein bereits eine gewisse Differenzierung zwischen den Opiaten erreicht wird. Zur weiteren Kennzeichnung ist noch darauf zu achten, ob schon mit der Bromlösung vor dem Zusatz der Jodlösung eine Opalescenz oder Trübung auftritt.

Die Durchführung der Kurzprüfung auf Opiate geht nun so vor sich, daß 30 cm³ des Urins — davon sind 10 cm³ für die DECKERTSche Probe und 20 cm³ für die Halogenmethode bestimmt — zunächst nach dem modifizierten Deckert-Verfahren verarbeitet werden, wobei natürlich auch die dreifachen Mengen der Reagentien und Wasser verwendet werden. Das nach der Vorfällung mit dem Molybdat und anschließender Mikrofiltration erhaltene Filtrat wird nun auf 3 Reagensgläschen zu gleichen Teilen verteilt.

Der Inhalt des *ersten* Röhrchens wird normal nach DECKERT untersucht.

Der Inhalt des *zweiten* Röhrchens wird mit 0,05 cm³ Ammoniak (25%) alkalisch gemacht, dann mit 0,06 cm³ Essigsäure (30%) angesäuert und nun ein Tropfen einer 1/10 n-Jodlösung hinzugefügt.

Das *dritte* Röhrchen wird in der gleichen Weise mit Ammoniak und Essigsäure versetzt und danach ein Tropfen einer Brom-Kaliumbromid-Lösung (1 Vol.-Teil gesättigtes Bromwasser + 2 Vol.-Teile 10%ige KBr-Lösung) zugegeben. Man beobachtet 1 min, ob Opalescenz auftritt und fügt dann noch einen Tropfen der Jodlösung hinzu.

Sofort nach dem Jodzusatz beobachtet man beide Röhrchen, ob eine Färbung bzw. Trübung gebildet wird. Unter Umständen langsam auftretende schwache Opalescenzen sind ohne Bedeutung. Sehr wichtig ist auch die Feststellung, ob sich beim Stehen über Nacht am Boden des Reagensgläschens ein rötlichbrauner Belag gebildet hat.

Nach ihrem Verhalten gegen die Halogene lassen sich die Opiate in 4 Gruppen gliedern, welche eine rasche Unterscheidung ermöglichen:

Die *Gruppe 1* bilden Morphin und Dilaudid. Diese werden nach DECKERT angezeigt, während mit Brom- und Jodlösung allein oder gemeinsam unterhalb 100γ je 10 cm^3 keine Trübungen entstehen.

Zur *Gruppe 2* gehören Eukodal und Codein, welche mit beiden Halogenen gemeinsam sofort braune feindisperse Trübungen geben, dagegen aber mit Jod- oder Bromlösung allein, unterhalb etwa $80 \gamma/10 \text{ cm}^3$ Urin, nicht reagieren. Eukodal wird mit beiden Halogenen schon bei einem Gehalt von $10 \gamma/10 \text{ cm}^3$ angezeigt (Codein beginnend mit 20γ).

Die *Gruppe 3* umfaßt Dicodid, Acedicon und Cocain. Schon mit Jodlösung allein werden braune Trübungen gebildet, bei Dicodid beginnend mit $10\text{--}20 \gamma$, bei Acedicon und Cocain beginnend mit 30γ je 10 cm^3 Urin.

Bromlösung allein erzeugt mit Dicodid ab $60 \gamma/10 \text{ cm}^3$ weiße Opalescenzen, während Cocain auch bei höheren Gehalten nicht reagiert. Acedicon nimmt eine Mittelstellung ein. Wesentlich empfindlicher ist die Reaktion des Dicodids mit der Bromlösung in salpetersaurer Lösung, die man im Anschluß an die Probe nach DECKERT bei deren negativem Ausfall durchführen kann.

Die Fällungen mit beiden Halogenen sind entsprechend stärker als mit Jodlösung allein.

Schließlich kann noch eine *4. Gruppe* unterschieden werden. Narcotin und Papaverin werden schon durch Molybdat weitgehend ausgefällt, daher treten die sonst sehr empfindlichen Reaktionen mit den Halogenen nur schwach in Erscheinung. Beide Alkaloide können übrigens dem Urin in schwach essigsaurer Lösung durch Ausschütteln mit Chloroform entzogen werden.

Zusammenfassend kann auf Grund langer praktischer Erfahrungen ausgesagt werden, daß das neue Kurzverfahren im Verein mit der gleichzeitigen Durchführung der Prüfung nach DECKERT und der noch zu erwähnenden Untersuchung mit Bromkresolgrün sichere Hinweise für das Vorliegen von Opiaten zu erbringen vermag. Infolge der hohen Empfindlichkeit des Verfahrens kann bei negativen Befunden eine weitere Untersuchung unterbleiben. Bei positivem Ausfall werden in Zweifelsfällen und zur Sicherung der Diagnose die üblichen Identifizierungsverfahren angewendet.

II. Die vollsynthetischen Analgetica.

Als Vorprüfung auf diese Suchtmittel wird das vom Verfasser bereits veröffentlichte Verfahren¹ mit Bromkresolgrün angewendet, welches aus dem von CRONHEIM und WARE ursprünglich für den Polamidonnachweis angegebenen Verfahren entstanden ist. Durch eine sehr weitgehende Vereinfachung der Untersuchung ist es möglich, in ganz kurzer Zeit festzustellen, ob Polamidon und Dolantin in Mengen über 10 γ /10 cm³ Urin auszuschließen sind. Auch Cliradon reagiert mit Bromkresolgrün, allerdings in wesentlich geringerem Maße, so daß erst etwa 50 γ je 10 cm³ Urin sicher angezeigt werden. Von den Opiaten zeigen nur Dicodid, Acedicon und gegebenenfalls auch Eukodal schwache Reaktionen, welche unter Umständen zur Unterscheidung der Opiate im Zusammenhang mit der Halogenmethode verwertet werden können.

Außer der starken Reaktion mit Chinin konnten noch beim Pervitin und Novocain schwach positive Reaktionen festgestellt werden.

Die vom Verfasser in der zitierten Arbeit angeführten Unterscheidungs- und Identitätsreaktionen mit den Halogenen, Pikrinsäure, Pikrolonsäure und Quecksilberchlorid-Salzsäure wurden inzwischen durch ein neues Unterscheidungsverfahren ergänzt, welches eine rasche Orientierung über die mit Bromkresolgrün positiv reagierende Substanz ermöglicht.

Die neue Methode beruht auf den Verschiedenheiten in der Basizität der Stoffe und in ihrer Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln.

Der Urin wird zunächst nur unter Zusatz des konzentrierten Phosphatpuffers allein bei einem p_H von 5,6 mit Benzol vorextrahiert, wobei je nach dem Suchtmittel ein bestimmter Anteil desselben in das Benzol übergeht.

Nach Abtrennung des Benzols wird dann erst Bromkresolgrün zugegeben und nun der Restgehalt des positiv reagierenden Stoffes quantitativ ermittelt.

Dieser Restwert gestattet eine Einordnung der Suchtmittel in 3 Gruppen.

Polamidon liefert auf Grund der bei 20 süchtigen Personen gefundenen Resultate Restwerte zwischen 12—25%.

Dolantin gab Restwerte zwischen 70—87%.

Cliradon und die *Opiate* bleiben nach der Vorextraktion fast 100%ig im Urin zurück.

Zum Nachweis des *Cliradons* ist eine genügend empfindliche und vollspezifische Kristallfällungsreaktion bisher nicht bekannt geworden.

Ein *Identitätsnachweis* kann jedoch durch die Gesamtheit der folgenden vom Verfasser gefundenen Reaktionen mit allergrößter Wahrscheinlichkeit erbracht werden.

¹ VIDIC, ERNST: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 339 (1951).

1. Bei der Vorprobe nach DECKERT wird Cliradon durch eine sehr empfindliche Trübungsreaktion erkannt, welche eintritt, wenn nach dem Vanadatzusatz zu der klaren Lösung 1 Tropfen Bromreagens hinzugefügt wird. Bereits 10 γ Cliradon in 10 cm³ Urin werden so angezeigt.

2. Cliradon gibt, wie schon erwähnt, eine schwache Reaktion mit Bromkresolgrün. (Nachweisgrenze 50 γ /10 cm³ Urin.)

3. Da Cliradon eine phenolische OH-Gruppe enthält, wird es beim Schütteln mit Natronlauge aus dem Benzolauszug entfernt. Der salzsaure Auszug aus dem Benzol muß also negativ reagieren.

4. Nach der Vorextraktion ergibt sich ein Restwert zwischen 95 bis 100 %.

5. Das aus dem Urin mit Chloroform ausgeschüttelte Cliradon kann mit diazotierter Sulfanilsäure zu einem orangeroten Azofarbstoff gekuppelt werden.

6. Mit dem Marquis-Reagens entsteht eine Orangefärbung (Mikrosublimat 10—20 γ).

7. MECKES Reagens färbt das Hydrochlorid orange gelb, dann sehr rasch blaviolett, schließlich blau.

Mikrosublimat der Base werden rasch blau.

III. Die Weckamine, insbesondere Pervitin.

Die bisher bekannt gewordenen Methoden zum Nachweis von Pervitin sind teils unspezifisch, teils zu wenig empfindlich und daher nicht immer geeignet, geringste Mengen von Pervitin in biologischem Material, und zwar speziell im Urin, rasch und mit der für forensische Zwecke notwendigen Sicherheit nachzuweisen.

Lange praktische Erfahrungen haben gezeigt, daß die Kristallbildung mit Platinchlorwasserstoffsäure bei der Anwendung der von GRIEBEL eingeführten Mikrobechermethode durch die aus dem Urin mitextrahierten biogenen Amine empfindlich gestört wird, so daß geringe Pervitingehalte nicht mehr sicher feststellbar sind.

Es gelang nun diese Störung durch Abänderung der Arbeitsbedingungen so weitgehend auszuschalten, daß nunmehr auch geringe Pervitingehalte rasch und in einfachster Weise sicher nachweisbar wurden.

Das aus dem Urin in der üblichen Weise (Ausschütteln mit Äther, Extraktion des Ätherauszuges mit verdünnter Salzsäure) isolierte Pervitin-Chlorhydrat wird im Mikrobecher nach Zusatz von Natronlauge unter Einhaltung einer bestimmten Zeit und Temperatur destilliert und mit dem sich gleichzeitig entwickelnden Wasserdampf auf kleinen trockenen — also keinen Reagenstropfen tragenden — Objektträgern niederschlagen. In den Kondensaten wird sodann das Pervitin durch Vermischen mit Platinchlorwasserstoffsäure in Form der bekannten typischen Kristalle identifiziert. Diese ein- oder zweiseitig spitz zulaufenden

prismatischen Kristalle sind meist in senkrechter Stellung zum Rande des Tropfens wahrnehmbar und weisen vielfach eine sehr erhebliche Länge auf, wodurch eine sichere Erkennung gewährleistet ist.

Diese Nachweismethode ist derart empfindlich, daß es noch möglich ist, den Nachweis jener Pervitinspuren zu erbringen, welche nach der geringsten Pervitindosierung (1 Tablette zu 0,003 g) in der Zeit zwischen 4—12 Std nach der Einnahme in den Harn übergehen. Die Zuverlässigkeit des Nachweises wurde durch eine große Zahl von Untersuchungen pervitinfreier Harne, als auch von Urinen nach bekannter Pervitinmedikation erwiesen.

In 10 cm³ Urin können, wenn die Flüssigkeitsmenge im Mikrobecher möglichst klein gehalten wird (1 Tropfen), noch wenige γ Pervitin nachgewiesen werden.

Die im vorstehenden Referat wiedergegebenen Prüfungsmethoden werden noch gesondert und entsprechend ausführlich in Fachzeitschriften zur Veröffentlichung gelangen.

Zusammenfassung.

Die sehr häufigen Urinkontrollen einer großen Zahl suchtverdächtiger Personen machten die Anwendung von Schnellmethoden zur chemischen Untersuchung von Urin auf Suchtmittel erforderlich.

Es wurde festgestellt, daß gerade innerhalb der wichtigen Bereiche geringerer Konzentrationen, außer Morphin und Dilaudid, die anderen Opiate und deren Derivate sowie Cocain durch die Kurzprüfung nach DECKERT nicht angezeigt werden. Um diese Alkaloide nachzuweisen, wurde daher ein Kurzverfahren ausgearbeitet, welches auf jenen Trübungsreaktionen beruht, welche eintreten, wenn den extrahierten Opiaten bestimmte Brom- und Jodlösungen einzeln oder hintereinander zugesetzt werden.

Zur Unterscheidung der mit Bromkresolgrün positiv reagierenden Analgetica und anderer Arzneistoffe wird ein neues Verfahren angegeben, welches auf den Unterschieden in der Basizität dieser Stoffe und in der Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln beruht.

Schließlich wird, zum Nachweis von geringen Pervitingehalten im Urin, ein rasch und in einfacher Weise durchführbares Mikrobecherverfahren kurz beschrieben, durch welches eine Ausschaltung der beim Verfahren nach GRIEBEL störenden, aus den Urinen stammenden, flüchtigen Stoffe erreicht wird.

Literatur.

CRONHEIM and WARE: J. of Pharmacol. **92**, 98 (1948). — DECKERT, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 656 (1936). — GRIEBEL, C.: Dtsch. Apotheker-Ztg **1944**, Nr 45—48. — VIDIC, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **12**, 339 (1951).

Dr. ERNST VIDIC, Institut für gerichtliche und soziale Medizin
der Freien Universität Berlin.