

Aus dem Laboratorium für Toxikologie und Gerichtliche Chemie
der Karls-Universität Prag (Direktor: Prof. MUDr. KAREL KÁČL, D. Sc.)

Isolierung und Nachweis von Bromural in der Toxikologie

Von

P. ŠKRABÁNEK*, B. CHUNDELA, I. HYNIE und K. KÁČL

(Eingegangen am 1. März 1963)

Bromural (syn. Bromisoval, Bromvaletone, Isonaurin, Dormigene, Valimil, Uvaleral usw.; chemisch: α -Bromisovalerianylcarbamid) wird in der Medizin schon über 50 Jahre verwendet.¹ Es handelt sich um einen weißen, kristallinen Stoff, der fast geruchlos und von bitterem bis beißendem Geschmack ist. In Wasser ist er nur gering löslich, dagegen löst er sich gut in Äther, Aceton, Alkohol, Benzol und anderen organischen Lösungsmitteln. Der Schmelzpunkt wird verschieden angegeben: 143—160° C.^{2,3}

Bromural wirkt auf den menschlichen Organismus sedativ, in höheren Dosen leicht hypnotisch. Es ist wegen seiner geringen Neben- und Nachwirkung sehr beliebt. Seine Toxizität wird allgemein niedrig geschätzt, die tödliche Dosis beträgt nach verschiedenen Autoren 10 bis 30 g^{4,5}. Es muß aber erwähnt werden, daß Bromural oft, z. B. bei Selbstmordversuchen, mit anderen Stoffen kombiniert wird (Alkohol, Kaliumbromid, Urethan, Pyramidon, Barbiturate, Chlorpromazin), welche seine Wirkung potenzieren oder mit ihm synergisch wirken, so daß eine viel kleinere Dosis genügt.

Der Verlauf der Vergiftung ist ähnlich wie bei den Barbituraten. Es wurden auch viele Fälle der Toxikomanie beschrieben. Die bisherigen Kenntnisse über Abbau und Entgiftung von Bromural sind ungenügend und uneinheitlich. Jedoch stimmen alle Autoren überein, daß Bromural im Organismus sehr schnell abgebaut wird, so daß in unveränderter Form mit dem Harn nur etwa 1% ausgeschieden wird. CURRY⁶ vertritt die Meinung, daß der Nachweis von Bromural nur im Verdauungstrakt möglich ist. Ungenügende Kenntnisse über das Schicksal des Bromurals im Organismus sind durch den völligen Mangel an passenden Untersuchungsmethoden zu erklären, wie z. B. auch daraus ersichtlich ist, daß sich in der Literatur keine einzige Nachricht über seinen Nachweis in anderen Organen — mit Ausnahme vom Gehirn — fanden^{7,8,16}.

Die meisten Autoren beschrieben den Nachweis der Substanz, jedoch eignet sich der größte Teil dieser Methoden für die Toxikologie nicht, da sie zu große Mengen des Stoffes erfordern oder ungenügend spezifisch sind.

Am häufigsten wird Bromural nach der Isolierung aus biologischem Material durch Schmelzpunktbestimmung nachgewiesen, wie von VAN

* Institut für Gerichtliche Medizin, Brünn.

RLJN⁹ empfohlen wird, jedoch handelt es sich fast immer um Mageninhalt, wo man große Mengen des unveränderten Stoffes finden kann. GIBITZ und HOMMA¹⁰ haben auf Grund des Schmelzpunktes, Mischschmelzpunktes und der Reaktion mit dem Millonschen Reagens Bromural im Magen- und Darminhalt sowie im Blut und Harn nachgewiesen. Andere Autoren bestimmen organisch gebundenes Brom spektrophotometrisch¹¹⁻¹³ oder titrimetrisch^{14,15}. Diese Methoden sind natürlich unspezifisch. Von der UV-Spektrophotometrie des Bromurals kann man nicht viel erwarten, weil das Maximum wenig charakteristisch ist und im kurzwelligen UV-Bereich liegt. Besser ist die Ultrarotspektrophotometrie, jedoch ist dafür eine größere Menge des Stoffes erforderlich. Mit dieser Methode haben UMBERGER und ADAMS¹⁶ Bromural im menschlichen Gehirn gefunden.

VIDIC¹³ beschreibt eine chromatographische Methode, bei welcher Bromural absteigend im System Benzin-Butanol-Wasser aufgetrennt und nach Chlorierung mit Chlorgas das chlorierte Derivat mit Benzidin und Kaliumjodid in Essigsäure nachgewiesen wird. Diese Methode ist zwar vielversprechend, aber der Autor gibt nicht an, ob er sie bei der Untersuchung von biologischem Material angewendet hat.

DRESSLER¹⁷ chromatographiert Bromural auf einem mit einem Gemisch von Agar, Äthylenglykol und Dimethylformamid imprägnierten Papier, als mobile Phase benutzt er das Gemisch Formaldehyd, Dimethylacetal, Dekalin, Chloroform und n-Hexan. Die Detektion erfolgt nach CURRY, die ursprünglich für die Derivate der β -Bromallylbarbitursäure ausgearbeitet war. Beide Methoden sind zeitlich sehr anspruchsvoll, und auch der zweite Autor gibt nicht an, ob sie für biologisches Material verwendbar ist.

Polarographische Methoden wurden ausschließlich für Präparate in Tablettenform benutzt^{18,19}.

Die Frage der Bromuralvergiftung kommt in der Problematik unseres Institutes häufig vor sowohl in klinischen Fällen, wo meistens der Nachweis im Harn in kürzester Zeit gefordert wird, als auch in forensischen Fällen, wo am häufigsten Organe untersucht werden. Diese Umstände haben uns gezwungen, an das Problem des toxikologischen Nachweises von Bromural näher heranzugehen.

Experimenteller Teil

Detektion (Sichtbarmachung) auf dem Papier

Da für toxikologische Zwecke Spezifität, genügende Empfindlichkeit und Verwendbarkeit auch in Anwesenheit von anderen Stoffen unbedingt erforderlich sind, haben wir unsere Aufmerksamkeit den chromatographischen Methoden zugewendet. Zuerst war es nötig, die Detektion auf dem Papier zu bestätigen. Es wurde die Detektion nach DRESSLER und auch nach VIDIC reproduziert^{13,14}, aber es schien uns, daß die erste Methode wenig deutlich, die andere zeitlich zu anspruchsvoll und wegen der Arbeit mit Chlorgas unangenehm ist. Weiter haben wir die Detektion

nach AWE und GROTE²⁰ für Bromderivate der Fettsäuren geprüft, jedoch ohne größeren Erfolg.

Auf Grund dieser Überlegungen sind wir von der Methode VIDIC ausgegangen, nur haben wir die Verwendung von Chlorgas durch Bespritzen mit Natriumhypochlorit ersetzt. Dieser Weg führte zum Ziel, und wir sind zu folgender Methode gelangt.

Lösungen

1. Ersatzlösung für Natriumhypochlorit. 10 g Chlorkalk werden in 50 ml Wasser zerrührt und mit der Lösung von 12,5 g Natriumcarbonat in 150 ml Wasser gemischt. Das so entstandene Gemisch wird in eine braune Flasche abfiltriert. Die Lösung hält etwa einen Monat.

2. Salzsäure (etwa 8%). 20 ml Salzsäure 37% p. a. auf 100 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

3. Chlorierungsreagens. 5 ml der Lösung 1 und 25 ml Wasser werden vermischt und tropfenweise Lösung 2 zugegeben, bis der p_H -Wert 6,7 erreicht ist. Es wird mit dem p_H -Meter gemessen, da die Reagenspapiere entfärbt werden.

4. Gesättigte Lösung von Benzidin in 96%igem Äthanol (denaturiert mit 1% Benzin).

Die Lösungen 3 und 4 werden unmittelbar vor der Anwendung vorbereitet.

Anmerkung: Die Lösung 1 haben wir aus Chlorkalk vorbereitet, da Natriumhypochlorit im Handel nicht erhältlich war und so nicht geprüft werden konnte.

Die Methodik

Trockenes chromatographisches Papier Whatman 1 mit aufgetragener Bromuralprobe wird ausgiebig mit der Lösung 3 mittels eines Zerstäubers bespritzt. Gleich darauf wird auf dieselbe Weise die Lösung 4 appliziert. Es zeigen sich bläuliche Flecke von Bromural auf graubraunem Grund. Es kann vorkommen, daß die Intensität der Fleckenfärbung nach einigen Stunden sinkt; deswegen empfiehlt es sich, die Flecke nach dem Trocknen mit dem Bleistift einzuzeichnen. Auf diese Weise kann der Stoff noch in einer Menge von $5\mu\text{g}$ nachgewiesen werden.

Eine andere Detektionsmethode ist folgende: Zu 1 n-AgNO₃ wird 6%iges Ammoniak so lange zugetropft, bis sich die Lösung aufklärt. Mit dieser Lösung wird das Papier bespritzt, und nach einigen Stunden treten dann violette Bromuralflecke auf gelbem, später auf braunem Grund heraus. Die Empfindlichkeit dieser Detektion ist kleiner, man kann etwa $20\mu\text{g}$ nachweisen.

Chromatographie der reinen Substanz

Es wurden die Papierchromatographie in verschiedenen Systemen und die Dünnschichtchromatographie ausprobiert. Folgende Systeme sind auf dem Papier erprobt worden: Benzin-Butanol-Wasser; Benzol-Wasser; Formamid-Benzol; Formamid-Chloroform; Amylalkohol-Ammoniak; Amylalkohol-Ameisensäure. Formamidssysteme eignen sich

nicht, da vor der Detektion mit Benzidinreagens Formamid durch Trocknen bei einer Temperatur von 110° C beseitigt werden muß, wobei es zu großen Verlusten des Bromurals kommt. Man kann sie aber bei der Detektion mit der ammoniakalischen Silbernitratlösung benutzen, da in solchen Fällen die Spuren von Formamid nicht störend wirken.

Am besten bewährte sich das System Benzin (Fraktion mit Siedepunkt 95—140° C) — Butanol-Wasser im Verhältnis 100:5:50. Auf die Startlinie bringt man gewöhnlich eine alkoholische Lösung von etwa 40 µg Bromural. Papier Whatman 1 wird in einer Schale so durch Wasser gezogen, daß 1—2 cm in der Startumgebung trocken bleiben. Überflüssiges Wasser wird zwischen zwei Blättern Filtrierpapier abgesaugt und 10—15 min bei Labortemperatur aufgehängt, bis es fast trocken ist. Das Papier wird dann in einen mit der unteren Phase gesättigten Cylinder gebracht und absteigend etwa 2—3 Std bei 20—25° C entwickelt. Nach einer Laufstrecke von etwa 30 cm Länge wird das Papier herausgenommen und bei Labortemperatur getrocknet. Die Detektion wird auf oben beschriebene Weise durchgeführt, wobei Bromural ovale Flecke vom R_f -Wert etwa 0,5 gibt.

Da festgestellt wurde, daß mit den vorgelegten Detektionsreagentien auch Barbiturate und andere stickstoffhaltige Substanzen reagieren, haben wir in diesem System auch einige weitere Stoffe untersucht.

Tabelle 1

| Substanz | R_f |
|---|-------|
| Coffein (1,3,7-trimethyl-2,6-dioxypurin) | 0,08 |
| Antipyrin (1-phenyl-2,3-dimethyl-5-pyrazolon) | 0,17 |
| Eudan, Rutonal (5-methyl-5-phenylbarbitursäure) | 0,27 |
| Barbital, Veronal (5,5-diäthylbarbitursäure) | 0,28 |
| Megimide, Bemegride (β - β -methyläthylglutarimid) | 0,36 |
| Allobarbital, Dial (5,5-diallylbarbitursäure) | 0,48 |
| Phenobarbital, Luminal, Dormiral (5-äthyl-5-phenylbarbitursäure) | 0,50 |
| Amidopyrin (1-phenyl-2,3-dimethyl-4-dimethylamino-5-pyrazolon) | 0,52 |
| Bromural, Bromisoval (α -Bromisovalerianylcarbamid) | 0,56 |
| Kalypnon (5-äthyl-5-krotylbarbitursäure) | 0,60 |
| Apobarbital, Allonal (5-allyl-5-isopropylbarbitursäure) | 0,62 |
| Cyclobarbital, Phanodorm (5-äthyl-5-cyclohexenylbarbitursäure) | 0,68 |
| Amobarbital (5-äthyl-5-isoamylbarbitursäure) | 0,81 |
| Doriden, Glutethimid (α -äthyl- α -phenylglutarimid) | 0,86 |

Die Stoffe mit ähnlichen R_f -Werten interferieren bei der eigentlichen Arbeit nicht, da sie beim systematischen Trennungsgang der Gifte in andere Fraktionen übergehen.

Im System Benzol-Wasser, wo die Imprägnation mit Wasser in ähnlicher Weise durchgeführt wird, bekommt man mehr ausgedehnte

Flecke vom R_f -Wert 0,7. In diesen beiden Systemen können $10 \mu\text{g}$ Bromural nachgewiesen werden.

Systeme Formamid-Chloroform und Formamid-Benzol ergeben rundliche, gut begrenzte Flecke vom R_f -Wert 0,5 bzw. 0,3, jedoch muß die Detektion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung durchgeführt werden. Die Empfindlichkeit der Detektion ist dann kleiner (etwa $30 \mu\text{g}$). Andere ausprobierte Systeme zeigten sich ungeeignet.

Die Dünnschichtchromatographie wurde vorläufig nur zur Orientierung ausprobiert. Als Adsorbens benutzten wir MERCK's Kieselgel G für die Dünnschichtchromatographie nach STAHL*. Die Resultate sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2

| Mobile Phase | R_f |
|----------------------------------|-------|
| Chloroform | 0,20 |
| Amylalkohol | 0,62 |
| Äther | 0,65 |
| Butylalkohol | 0,65 |
| Benzin—5% Butylalkohol | 0,85 |

Die Detektion wurde wie bei der Papierchromatographie durchgeführt. Die Empfindlichkeit war ungefähr viermal niedriger.

Isolierung aus biologischem Material

Es wurde folgendes Material bearbeitet: Harn, Magen-, Darminhalt und Leber.

Harn. Als beste bewährte sich die fraktionierte Methodik, die von DRESSLER u. Mitarb.²¹ für extrahierbare Gifte benutzt wird. Harn wird mit verdünnter Salzsäure bis auf $\text{pH } 5$ angesäuert und zweimal mit dem gleichen Äthervolumen ausgeschüttelt. Zu den vereinigten Ätherextrakten fügt man Phosphatpuffer nach SØRENSEN ($\text{pH } 7,4$) hinzu, auf 50 ml Äther etwa 10 ml Puffer. Es werden noch einmal mit einer kleineren Menge des Puffers etwa 5 ml ausgeschüttelt. Der Puffer wird abgossen und der Äther in dem Scheidetrichter belassen. Weiter wird die Ätherphase dreimal mit 20 ml 3% Na_2CO_3 -Lösung ausgeschüttelt. Der Äther wird durch ein trockenes Filter in eine gläserne Abdampfschale abfiltriert und auf dem Wasserbad abgedampft. Nach dem Abdampfen des Äthers muß erhöhte Temperatur vermieden werden, um Verluste zu verhindern. Im Rückstand können außer Bromural auch andere extrahierbare Gifte, z. B. Meprobumat und Phenacetin, vorhanden sein. Wenn es sich um ein unbekanntes Gift handelt, wird natürlich auch die Natriumcarbonatlösung, die Barbiturate oder andere Stoffe enthält, weiterbearbeitet.

Die Methodik wurde teils in Versuchen mit Ratten, teils in Versuchen an Menschen ausprobiert. Es wurden für die Versuche 15 Ratten genommen. Den Harn haben wir nach der oben beschriebenen Methodik

* Chromatographie, E. Merck AG., Darmstadt.

bearbeitet und den Ätherrückstand im System Benzin-Butanol-Wasser 100:5:50 chromatographiert. Bei 10 Ratten haben wir mit einer Magensonde eine Suspension von Bromural in Carboxymethylcellulose in einer Menge von 0,4 g/kg appliziert. Fünf Kontrollratten bekamen nur Carboxymethylcellulose. Alle Tiere haben die Versuche überlebt. Der Harn wurde nach 24, 48 und 72 Std abgenommen und nach der oben beschriebenen Methodik bearbeitet.

Die so gewonnenen Rückstände wurden in Alkohol gelöst und gemeinsam mit einem 50 μ g-Standard in Mengen, die 1 ml und 2 ml Harn entsprachen, auf das Papier aufgetragen. Nach der Detektion mit Benzidinreagens wurden die Flecke mit dem R_f -Wert von Bromural semi-quantitativ durch Vergleich mit dem Fleck des Standards ausgewertet. Es wurde folgendes festgestellt: Im Harn der Kontrolltiere haben wir keinen Stoff gefunden, der sich auf diese Weise nachweisen lassen könnte. Im Harn der Versuchstiere konnten wir

nach 24 Std 0,3—0,5%

nach 48 Std 0,2—0,3%

nach 72 Std 0,1—0,2%

von der ursprünglichen Bromuralmenge nachweisen.

Der Nachweis der Identität des gefundenen Stoffes mittels Schmelzpunktbestimmung war nicht möglich, da die Menge des Rückstandes zu klein war. Aus diesem Grunde haben wir zur Kontrolle die Chromatographie im System Benzol-Wasser durchgeführt. Auch in diesem System stimmte der R_f -Wert mit dem Standard überein*.

Weiter wurde diese Methodik im Versuch an Menschen ausprobiert. Die Versuchspersonen nahmen einmalig 1,8 g Bromural. Vor dem Versuch und 12 Std nach dem Versuch wurde Harn abgenommen. In dem nach 12 Std abgenommenen Harn haben wir etwa 0,3% unverändertes Bromural gefunden.

Leber. Die klassische Methode nach STAS-OTTO fanden wir für die Isolierung ungeeignet und zwar aus folgenden Gründen: Der alkoholische Extrakt soll nach STAS-OTTO einige Stunden unter Rückfluß auf dem Wasserbad erhitzt und das Filtrat mit Sand auf dem Wasserbad zur Trockne abgedampft werden. Das dauert einen oder mehrere Tage, und außerdem wird der Extrakt in absolutem Alkohol abgedampft. Da das Bromural bei einer Temperatur um 100° C leicht sublimiert und stark versetzt wird, ist es klar, daß diese Methodik ungeeignet ist. Wir haben deswegen die Extraktion nach DRESSLER, die für Bromural ein wenig modifiziert werden mußte, anzuwenden versucht.

* *Anmerkung:* Bei den Versuchstieren war der Harn sehr alkalisch (p_H 9—10), während bei den Kontrolltieren der p_H -Wert 7,5 betrug. Bei Menschen haben wir das nicht beobachtet.

Die abgewogene Lebermenge (mindestens 10 g) wird fein homogenisiert. Unter ständigem Mischen fügen wir wasserfreies Natriumsulfat so lange zu, bis kristallines Natriumsulfat ausfällt und der Brei dick wird. Dazu geben wir die dreifache Menge 96%igen Alkohol mit Weinsäure und filtrieren nach etwa 12stündigem Stehen ab. In der von DRESSLER beschriebenen Apparatur wird das Filtrat in einem Kolben mit Ammoniumsulfat (Menge: 15 g) versetzt und der Alkohol unter vermindertem Druck abdestilliert. Es wird heißes Wasser zugegeben und 2 min auf dem kochenden Wasserbad erhitzt (statt 20 min der Originalvorschrift). Der Inhalt des Kolbens wird filtriert und das Filtrat ähnlich wie Harn bearbeitet.

Diese Methodik haben wir in folgendem Experiment ausprobiert. Drei Ratten wurden 0,25 g/kg Bromural auf die gleiche Weise wie im vorherigen Versuch appliziert. Nach 6, 24 und 72 Std haben wir die Ratten mechanisch getötet und die Leber der getöteten Versuchs- und Kontrolltiere, wie oben beschrieben, verarbeitet. Es wurden Mengen, die 5 g Leber entsprechen, aufgetragen. Die größte Bromuralmenge fanden wir nach 6 Std, weniger nach 24 Std, und nach 72 Std war das Resultat der Untersuchungen schon negativ. Gleichzeitig hat sich auf dem Chromatogramm, auf welchem Bromural nachgewiesen wurde, nach der Detektion auch ein Stoff vom R_f -Wert etwa 0,3 gezeigt, den wir für einen möglichen Metaboliten hielten. In einem weiteren Versuch ist es uns nicht gelungen, dies zu bestätigen. Zu der homogenisierten Leber einer anderen Kontrollratte fügten wir 50 $\mu\text{g/g}$ Bromural zu. Die Bearbeitung nach derselben Methodik ergab auf dem Chromatogramm wieder einen Fleck von Bromural und einen Fleck mit einem R_f -Wert von etwa 0,3. Das bedeutet also, daß dieser Fleck einem Stoff, der artifizuell bei der Extraktion entsteht, entspricht. Ob dieser Stoff auch in vivo entsteht, könnten wir vorläufig nicht feststellen. Gleichzeitig fanden wir, daß die extrahierte Bromuralmenge etwa 10% der ursprünglichen Menge entspricht, so daß eine quantitative Bewertung nicht möglich ist. Zum qualitativen Nachweis genügt sie jedoch, wie aus folgendem hervorgeht.

Magen- und Darminhalt. Wir haben mehrmals gefunden, daß die dünne Flüssigkeit, die man durch die Magenspülung gewinnt, ebenso wie Harn extrahiert werden kann. Wenn es sich um dicken Mageninhalt handelt, kann man so arbeiten wie mit festen Organen.

Praktische Fälle

Fall Nr. 1. Die Patientin L. K., 15 Jahre alt, nahm am Tage 40 Tabletten Bromural 0,3 g im Selbstmordversuch zu sich. Gegen Abend wurde sie schläfrig in eine Klinik eingeliefert. Interner Befund bei der Aufnahme: Somnolent, reagiert auf stärkere Reize, Blutdruck 96/60. Puls 72, Atmung 18, Horizontalnystagmus, Muskelhypotonie, allgemeine Hyporeflexie. Sonst alles normal.

Therapie: Magenspülung. Nach 3 Tagen wurde die Patientin ohne Beschwerden entlassen. Von dem sofort nach Aufnahme abgenommenen Harn wurden 50 ml nach oben angegebener Methode verarbeitet. Es wurde etwa 1% Bromural im Harn nachgewiesen.

Fall Nr. 2. Patient J. J., 20 Jahre alt, bewußtlos aufgefunden, wurde in die Klinik gebracht. Während der Untersuchung war er noch bewußtlos und reagierte nicht auf Reize. Bei der Aufarbeitung von 50 ml Harn wurden 2 mg-% Bromural, weiter 1 mg-% Phenobarbital und Amidopyrin gefunden. Erbrochenes wurde ähnlich wie Harn verarbeitet und darin die Anwesenheit von Bromural nachgewiesen.

Fall Nr. 3. Patient Š. H., 66 Jahre alt, wurde tot in die Klinik gebracht mit Verdacht auf Vergiftung mit Dormiral® und Isonal®. In der Wohnung fand man die Verpackungen folgender Medikamente: Isonal®, 0,3 g; Bromural; je eine 20 Tabl.-Packung Phenobarbital 0,1 und 0,3 g sowie 2 Schachteln Dormiral®.

Sektionsbefund: Gehirnödem, Hyperämie der Organe, sonst alles ohne pathologischen Befund.

Zur Untersuchung wurden Leber, Magen- und Dünndarminhalt geschickt. Nach der Extraktion konnten wir im Magen- und Darminhalt Phenobarbital und Bromural nachweisen. In der Leber fanden wir etwa 2 mg-% Phenobarbital und etwa 3 mg-% Bromural.

Diskussion

Reaktionen, die wie bei der oben beschriebenen Detektion verlaufen, sind noch nicht völlig aufgeklärt. Der Mechanismus dieser Reaktion ist anders als bei der von VIDIC beschriebenen Detektion. Sodanton, Barbiturate und einige andere Stoffe geben nämlich bei der Detektion nach der oben angegebenen Methode dunkle, graubraune bis blauviolette Flecke (wie bei der Methode von VIDIC), während Bromural eigentlich einen negativen Fleck gibt. Die Detektion ist empfindlicher als bei anderen Methoden, und die Arbeit verläuft wesentlich schneller. Die ganze Analyse dauert bei Harn ungefähr 5 Std, bei Leber etwa 24 Std.

Die Ergebnisse, die nach dieser Methode aus den Organen gewonnen werden, sind zwar ziemlich klein, jedoch genügen diese Mengen für den toxikologischen Nachweis. Es gelang uns, Bromural auch in 5 g Leber von einer Ratte, die nach Verabreichung einer Dosis nicht einmal bewußtlos war, sowie in der Leber eines Verstorbenen, der angeblich 0,1 g/kg zu sich genommen hatte, nachzuweisen. Da der größte Teil des Bromurals binnen weniger Stunden metabolisiert wird, sind wir zu der Ansicht gekommen, daß die quantitative Auswertung der Analysenresultate keinen großen diagnostischen Wert hat, weil die individuellen Unterschiede zu groß sind und aus der gefundenen Menge keinesfalls auf die Höhe der aufgenommenen Dosis geschlossen werden kann. Wie aus den Versuchen an Ratten hervorgeht, sinkt die Bromuralmenge in der Leber rasch ab. Überlebt der Kranke ein paar Tage, so kann der Befund negativ sein. Dies ist von Wichtigkeit besonders bei der Kombination mit langwirkenden Barbituraten, weil in solchen Fällen der Tod erst nach vielen Tagen eintreten kann. Bei den Versuchen an Ratten haben

wir eine Reihe von verschiedenen Stoffen gesehen, die sich auf Chromatogrammen zeigten, während sie im normalen Rattenharn nicht vorkamen. Einige Stoffe gewannen wir auch durch ätherische Extraktion aus angesäuertem, andere aus neutralem und wieder andere aus alkalisiertem Harn. Bis jetzt ist es uns nicht gelungen, irgendeinen von diesen Stoffen zu identifizieren. Es ist aber klar, daß wenigstens einige von ihnen Metaboliten des Bromurals sind und daß die Frage seines Schicksals im Organismus sehr kompliziert ist.

Zusammenfassung

Es wurde eine Methode zur Detektion und zum spezifischen Nachweis von Bromural im Harn, im Mageninhalt und in der Leber mittels Papierchromatographie vorgeschlagen. Nach der Extraktion wird der ätherische Rückstand im System Benzin-Butanol-Wasser oder Benzol-Wasser aufgetrennt und nach dem Besprühen mit Natriumhypochlorit vom p_H 6,7 durch eine alkoholische Lösung von Benzidin nachgewiesen. So wurde die Analysenzeit wesentlich verkürzt. Die Versuche wurden an Ratten durchgeführt und an praktischen Fällen bestätigt. Bis $10 \mu g$ Bromural können zuverlässig nachgewiesen werden.

Literatur

- ¹ SAAM, E.: Über Bromural, ein neues Beruhigungs- und Einschläferungsmittel aus der Gruppe der Baldriansäurederivate. Pharm. Zentralh. **48**, 143—144 (1907).
- ² DOSER, H.: Über die Schmelzpunkte des Pantokains, Bromurals und Theophyllins. Arch. Pharm. (Weinheim) **281**, 251—256 (1943).
- ³ BUD ŠINSKÝ, Z., u. M. PROTIVA: Synthetická léčiva. Nakl. ČSAV, Praha 1954.
- ⁴ HAUSCHILD, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie. Leipzig: Georg Thieme 1960.
- ⁵ MÖLLER, K. O.: Pharmakologie als theoretische Grundlage einer rationellen Pharmakotherapie. Basel: Benno Schwabe & Co. 1953.
- ⁶ CURRY, A. S.: Toxicological Analysis. J. Pharm. Pharmacol. **12**, 321—339 (1960).
- ⁷ EHRLSMANN, O.: Über den Eintritt von Schlafmitteln der Barbitursäure- und Harnstoffreihe in das Zentralnervensystem. (Versuche mit Hilfe der Mikrosublimation.) Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **136**, 113—119 (1928).
- ⁸ GENSLER, P.: Über die Verteilung des Neuronals, Bromurals und Adalins im Organismus. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **79**, 42—54 (1916).
- ⁹ VAN RIJN, E. A.: Recherche du véronal, de l'adaline et du bromural dans l'urine. J. Pharm. Belg. **36**, 844 (1928); — Pharm. Weekbl. **63**, 1030—1032 (1928).
- ¹⁰ GIBITZ, H., u. K. HOMMA: Über einen Fall von tödlicher Bromuralvergiftung. Arch. Toxikol. **17**, 295—298 (1959).
- ¹¹ STEENHAUER, A. J., and N. HORNBOSTEL: Fatal Bromisoval poisoning. Pharm. Weekbl. **95**, 691—693 (1960).
- ¹² WILLIAMS, L. A.: Drug identification using ultraviolet spectrophotometry. J. forens. Sci. **4**, 492—498 (1959).

- ¹³ VIDIC, E.: Papierchromatographische und spektralphotometrische Identifizierung barbitursäurefreier Sedativa, insbesondere von Meprobramat. *Arch. Toxikol.* **17**, 373—386 (1959).
- ¹⁴ HARDWICK, R. B., M. V. JOHNSON and C. W. PICARD: Determination of Bromine in Carbromal and Bromvaletone (Bromural) and α -Bromacylcarbamides. *J. Pharm. Pharmacol.* **4**, 109—114 (1952).
- ¹⁵ LANGEJAN, M., u. J. A. C. VAN PINXTEREN: Analyse van een mengseleavn acetylsalicylzuur, phenacetine, coffeine en bromisovalerianylureum. *Pharm. Weekbl.* **86**, 509—515 (1951).
- ¹⁶ UMBERGER, C. J., and G. ADAMS: Identification of malonyl urea derivatives. Infrared absorption in toxicological analysis. *Analyt. Chem.* **24**, 1309—1322 (1952).
- ¹⁷ DRESSLER, A.: Nachweis und papierchromatographische Auftrennung der barbituratfreien Sedativa. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **50**, 457—463 (1960).
- ¹⁸ DUŠINSKÝ, G., u. Z. GRUNTOVÁ: Polagrafické stanovenie niektorých organických látok nerozpustných vo vode za použitia ľadovej kyseliny octovej. *Čs. Farm.* **4**, 199—201 (1956).
- ¹⁹ VOLKOVÁ, V.: Polarografické stanovení a rozlišení Bromisovalu a Bromadału. *Čs. Farm.* **4**, 203—206 (1956).
- ²⁰ AWE, W., u. B. GROTE: Untersuchung einiger bei Jodzähl-Bestimmungen entstehenden Halogen Fettsäuren. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **61**, 1—5 (1959).
- ²¹ DRESSLER, A., M. MÜLLER u. H. SCHÖNFELD: Über die Isolierung reiner Barbiturate im Verlauf der chemisch-toxikologischen Analyse. *Arch. Toxikol.* **17**, 286—292 (1959).

Prof. MUDr. KAREL KÁČL, D. Sc.,
Laboratorium für Toxikologie und Gerichtliche Chemie der Karls-Universität,
Prag 2, Kateřinská 32