

Die Aufzählung von Beispielen soll hier nicht ohne den Hinweis auf die Bedeutung der Dünnschichtchromatographie für den Nachweis von Stoffwechselprodukten zahlreicher Pharmaka beendet werden. So verfolgten u. a. BÄUMLER und RIPPSTEIN den Abbau von Librium bei Körperpassage und isolierten auf diese Weise das 2-Amino-5-chlor-benzophenon aus dem Harn libriumbehandelter Personen als wichtigsten, mit Glucuronsäure gepaarten Metaboliten. Auch VIDIC konnte durch Dünnschichtchromatographie mehrere Abbauprodukte des Jetriums und des Polamidons im Urin nachweisen.

Die Zahl der Publikationen über dünn-schichtchromatographische Methoden nimmt laufend zu. Diese Übersicht mußte auf wenige Anwendungsbeispiele beschränkt bleiben, ohne damit einzelne Verfahren besonders hervorheben zu wollen. Die Zukunft wird zeigen, welche der Methoden einmal zu bevorzugen sein wird oder aber, ob jede für sich, die Papierchromatographie und die Dünnschichtchromatographie, die ihnen zugeordneten Aufgaben nebeneinander erfüllen werden.

Literatur

- BÄUMLER, J., u. S. RIPPSTEIN: *Pharmac. Acta Helv.* **36**, 382 (1961).
— — *Helv. chim. Acta* **44**, 2208 (1961).
CHOCHIN, J., u. J. W. DALY: *Experientia* (Basel) **18**, 249 (1962).
EL GENDI, S., W. KISSER u. G. MACHATA: *Mikrochim. Acta* **120** (1965/I).
FRAHM, M., A. GOTTESLEBEN u. K. SOEHRING: *Arzneimittel-Forsch.* **11**, 1008 (1961).
GÄNSHIRT, H., u. A. MALZACHER: *Arch. Pharma.* (Weinheim) **293**, 65, 925 (1960).
GELDMACHER-MALLINCKRODT, M., u. U. WEIGEL: *Arch. Toxikol.* **20**, 114 (1963).
MACHATA, G.: *Mikrochim. Acta* **79** (1960).
—, u. W. KISSER: *Arch. Toxikol.* **19**, 327 (1962).
RANDERATH, K.: *Dünnschichtchromatographie*. Weinheim: Verlag Chemie 1962.
STAHL, E.: *Dünnschichtchromatographie*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962.
STOLMANN, A.: *Progress in chemical toxicology*, vol. 2, p. 321. New York and London: Academic Press 1965.
SUNSHINE, J., E. ROSE u. LE BEAU: *J. Clin. Chem.* **9**, 312 (1963).
TEICHERT, K., E. MUTSCHLER u. H. ROCHELMMEYER: *Dtsch. Apoth.-Ztg.* **100**, 283 (1960).
VIDIC, E.: *Arch. Toxikol.* **19**, 254 (1961).
—, u. J. SCHÜTTE: *Arch. Pharm.* (Weinheim) **295**, 342 (1962).

Dr. H. W. RAUDONAT
Institut für gerichtliche Medizin
der Universität
6 Frankfurt a. M., Kennedy-Allee 104

G. MACHATA (Wien): Die Dünnschichtchromatographie im systematischen, toxikologischen Analysengang.

Die Dünnschichtchromatographie (Dchr.) ist eine Methode, die an Einfachheit und Zweckmäßigkeit für das toxikologische Laboratorium nicht zu überbieten ist. Sie ist eine einfache Methode und soll eine einfache

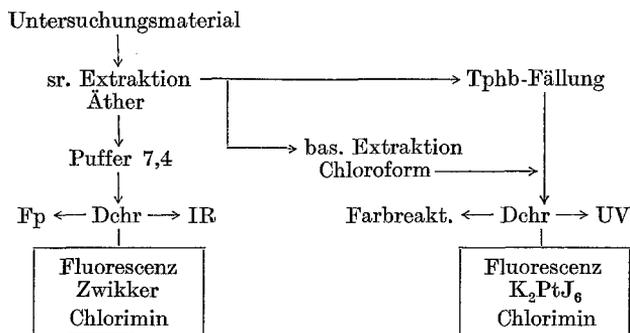
Methode bleiben. Daran ändert nichts, daß verschiedene, komplizierte Techniken, wie z. B. absteigende Chromatographie, Mikroplattentechnik, Stabtechnik u. a., eingeführt wurden, ohne jedoch einen realen Wert erkennen zu lassen [1, 2, 3].

Das gleiche gilt für die Anwendung der verschiedensten Sorptionsmittel, mit oder ohne Bindemittel, Kieselgur, Aluminiumoxyd, Calciumsilikat, Cellulose, Polyamid u. a. Als neu und sehr brauchbar kann die Verwendung von industriell hergestellten Kieselgel-Schichten auf Polyesterfolien angesehen werden. Diese von der Eastman Kodak Comp. hergestellten¹ Folien, haben eine 100 Mikron dicke Schicht von Kieselgel, die mechanisch wesentlich widerstandfähiger ist, als die Schichten auf Glasplatten. Diese Folien gaben bei allen toxikologischen Untersuchungen in unserem Laboratorium die gleichen Ergebnisse wie die selbstgefertigten Schichten. Die 20 × 20 cm großen Folien können entsprechend zurechtgeschnitten werden. Beim Auftragen ist darauf zu achten, daß die gegenüber der Standardschicht von 250 Mikron viel dünneren Schicht auf den Folien nur mit einer geringeren Menge Substanz beladen werden darf, um scharfe Flecken zu erhalten. Die Folien sind auch bei der Chlorierung der Schicht beständig, der beigefügte Indicator ergibt bei 254 nm eine rotorange Fluoreszenz. Zur Eluierung von Strichchromatogrammen wird die Zone ausgeschnitten. Die Laufzeit der verwendeten Standardelutionsmittel zur Erzielung eines gleichen Weges wie bei den Glasplatten ist geringfügig länger.

Die universelle Anwendung in der Toxikologie, auf der Suche nach einem unbekanntem Gift, bedingt für ein toxikologisches Labor ein einheitliches Vorgehen mit einheitlichem Plattenmaterial und wenigen Standardlösungsmitteln. Es ist nicht angängig bzw. aus Personalmangel auch nicht möglich, eine Unzahl der verschiedenen Platten mit Sorptionsmitteln und komplizierte Lösungsmittelgemische vorrätig zu halten, da in der Mehrzahl der Fälle das eingenommene Gift nicht bekannt ist. Die sinnvolle Anwendung der Dchr setzt einen Analysengang voraus, der sich vom klassischen Gang praktisch nicht unterscheidet und nur die neue Trennmethode sinnvoll einbaut. Es gelingt dadurch, den Gang wesentlich zu vereinfachen.

Praktisch kommt man mit zwei Extraktionen aus, im sauren und ammoniakalischen Bereich. Weitere Trennvorgänge sind nicht nötig. Der saure Extrakt wird nach Reinigung mit einem Puffer, pH 7,4 (Pufferlösung mit Eisenchlorid auf Salicylsäure prüfen) direkt untersucht. Wir verwenden für unsere Routineuntersuchungen nur Kieselgel G-Schichten; andere Sorptionsmittel zeigen nach unseren Untersuchungen keinerlei Vorteile. Für Barbiturate ist das Elutionsmittel Chloroform-Äther noch

¹ Eastman Chromagram sheet: Type K 301 R2 ohne und Type K 301 R mit Fluoreszenzindicator.



immer das beste; durch den 15–20%igen Ätheranteil läßt sich der R_f -Wert der Barbiturate in geringen Grenzen variieren. Die Platten sind prinzipiell mit einem Fluoreszenzindicator versetzt und werden vor dem Besprühen im UV-Licht bei 366 und 254 nm betrachtet. Dann wird zur Bestimmung der Barbiturate mit beiden Reagentien nach ZWIKKER besprüht und danach kann die Platte nach dem Chlorieren mit o-Toluidin erneut besprüht werden. Mit diesen zwei Reagentien werden alle sauren, synthetischen Arzneimittel erfaßt. Kann eine Substanz aus der Farbreaktion oder dem R_f -Wert nicht identifiziert werden, so wird prinzipiell ein IR-Spektrum aufgenommen, nötigenfalls nach vorhergehender Reinigung auf der Dünnschichtplatte in Form eines Strichchromatogrammes. Dieses Verfahren ist besonders bei Mischungen von Arzneimitteln oder bei Barbituraten mit zahlreichen Abbauprodukten nötig, wo auf anderem Weg bis jetzt kaum eine Trennung im Mikromaßstab möglich war.

Die basische Extraktion bei ammoniakalischer Reaktion mit Chloroform wird dehr untersucht, die Platte im UV-Licht betrachtet und danach mit Jodoplatinat besprüht. Sämtliche Basen geben entweder UV-Absorption oder Farbreaktion mit Jodoplatinat. Auch hier ist das nachträgliche Besprühen zur Erzielung der sehr empfindlichen Chloriminreaktion möglich. Zur Verbesserung der Ausbeute an basischen Arzneimitteln verwenden wir das Verfahren der Fällung mit Tetraphenylborat und konnten die Ausbeuten, besonders bei den flüchtigen Weckaminen, bis auf 80% steigern [4].

Wenn auch vielfach eingewendet wird, daß das Trennvermögen der Dchr geringer als das der P-chr ist, muß dem entgegengehalten werden, daß der Zeitbedarf wesentlich kürzer und auch die Trennschärfe besser ist. Es gelingt selbstverständlich nicht nur aufgrund der R_f -Werte, Substanzen absolut zu identifizieren (besonders bei Barbituraten). Bei Barbituratgemischen, wo die Komponenten eng benachbarte R_f -Werte besitzen, tritt jedoch oft eine überraschend scharfe Trennung auf, die aus der Lage der R_f -Werte eigentlich nicht zu erwarten wäre. In jedem

Fall werden die Substanzen rein erhalten, so daß eine Identifizierung durch Schmelzpunktbestimmung oder IR-Spektrum leicht möglich ist.

Für spezielle Fälle muß man unter Umständen zu speziellen Eluations- und Sprühmitteln greifen. Aber auch hier kommt man in der Regel mit Kieselgel G aus.

Wir arbeiten seit 7 Jahren mit dieser Methode und können uns auf ein reiches Erfahrungsmaterial stützen, das uns in die Lage versetzt, in kürzester Zeit Analysen durchzuführen, die früher Tage oder Wochen benötigten. Besonders für kleine Laboratorien bringt dieses Verfahren unter Verwendung von nur einem Sorptionsmittel, drei Sprühmitteln und drei Eluationsflüssigkeiten weitreichende Möglichkeiten, die auch bei Einsatz von sehr aufwendigen physikalisch-chemischen Apparaturen nicht zu erzielen wären.

Sinngemäß und unkompliziert eingesetzt, dürfte die Dehr der größte Fortschritt in der forensischen Toxikologie seit der Einführung der physikalisch-chemischen Analysemethoden sein.

Reagentien-Verzeichnis

1. Phosphatpuffer pH 7,4 (26, 12 g KH_2PO_4 114,80 g Na_2HPO_4 auf 2 l Wasser);

2. Jodoplatinat: 3 ml 10%ige Platin-IV-chlorwasserstofflösung und 97 ml Wasser, 100 ml 6%ige Kaliumjodidlösung;

3. Zwikker's Reagens: I. 0,5% Kobaltacetat in Methanol. II. 5% i-Propylamin in Methanol;

4. o-Tolidin-Kaliumjodid: 30 mg o-Tolidin in 6 ml Eisessig und 200 mg Kaliumjodid in Äthanol, auf 100 ml aufgefüllt;

Eluationsmittel: 1. Chloroform + 15% Äther. 2. Chloroform + 20% Äthanol. 3. Methanol. Entwicklung mit Kammerübersättigung.

Platten: Kieselgel GF₂₅₄ Merck, Art. Nr. 7730. Schichtdicke 250 Mikron, 30 min bei 110° aktiviert; Eastman Chromagram sheet, Type K 301 R (Eastman Kodak Comp.) 30 min bei 110° aktiviert.

Zusammenfassung

Der Einsatz der Dünnschichtchromatographie im systematischen, toxikologischen Analysengang für den Nachweis organischer Verbindungen nach vorhergehender Extraktion wird beschrieben. Es gelingt, mit zwei Extraktionen (im sauren und alkalischen Milieu) und nachfolgender dünnschichtchromatographischer Untersuchung praktisch alle in Betracht kommende organische Gifte im Untersuchungsmaterial zu erfassen. Bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung findet man normalerweise mit Kieselgel G als Adsorbens, drei Eluationsmitteln

und drei Sprühreagentien neben der Betrachtung im UV-Licht das Auslangen.

Summary

The use of the thin layer chromatography (TLC) in the systematic toxicological analysis in routine determination of organic poisons is described. With two extractions (acid and alkaline) followed by TLC it is possible to find out all common organic poisons in urin, viscera and tissues. The TLC is done with only Kieselgel G as a sorbent, three eluents and three spraying-reagents, together with UV-light detection.

Literatur

- [1] MACHATA, G.: Thin-layer chromatography (TLC) in forensic science. Methods of forensic science, ed. by A. S. CURRY, vol. IV. London-New York-Sydney: Interscience Publ. 1965.
- [2] SOLIMAN EL GENDI, W. KISSER u. G. MACHATA: Isolierung und Nachweis basischer Arzneimittel in der Toxikologie. Mikrochim. Acta **1965**, 120.
- [3] STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962.
- [4] MACHATA, G.: Der chemische Nachweis des Dopings beim Sport. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **57**, 335 (1966).

Dozent Dr. phil. GOTTFRIED MACHATA
Institut für gerichtliche Medizin der Universität
Wien IX, Sensengasse 2

W. PAULUS (Bonn): Der IR-Nachweis einiger Arzneimittel nach dünn-schichtchromatographischer, präparativer Reinigung und Trennung.

W. ARNOLD (Hamburg): IR-spektrophotometrische Identifizierung von Barbituraten nebst Metaboliten nach dünn-schichtchromatographischer Auftrennung.

G. KAMM (Marburg): Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Cumarinderivaten.

FARAGO und Frau MAJOR (Budapest): Blutfarbstoffnachweis mit Dünnschichtchromatographie