

Adsorptionsverfahren zur Bestimmung von Arzneimitteln in biologischem Material

G. Machata und W. Vycudilik

Institut für gerichtliche Medizin der Universität Wien (Österreich)

Eingegangen am 31. Oktober 1973

The Adsorption Methods in the Analysis of Drugs in Biological Materials

Summary. The usefulness of adsorbents (XAD-resin, charcoal and ion exchange resins) in the toxicological analysis is investigated and compared with the wellknown extraction methods. Although solid adsorbents are convenient in their application for urine samples, solvent extraction is much superior in the separation of acidic and basic compounds, in the recovery of drugs and in the universal application to all types of biological samples (organ extracts). In any case it is suggested to consider critically the use of adsorbents.

Zusammenfassung. Die Brauchbarkeit von Adsorbentien (XAD-Harze, Aktivkohle, Ionenaustauscher) für die toxikologische Analyse wurde untersucht und der herkömmlichen Extraktionsmethode gegenübergestellt. Obwohl Adsorptionsmittel bei der Untersuchung von Harnproben bequem anzuwenden sind, können die Extraktionsmethoden sowohl hinsichtlich ihrer Fähigkeit, in saure und basische Fraktionen zu trennen, als auch in der besseren Ausbeute und der Anwendung für alle Untersuchungsmaterialien (besonders Organextrakte) nicht ersetzt werden.

Key words: Adsorptionsverfahren, biologisches Material — Arzneimittel, Nachweis in biologischem Material.

Zur Ausmittlung der verschiedensten Arzneimittel in Körperflüssigkeiten, insbesondere im Harn, werden in letzter Zeit Verfahren vorgeschlagen, die auf Adsorptionsvorgängen beruhen. Steht in der klinischen Routineuntersuchung der Harnprobe vor allem die bequeme Handhabung der XAD 2-Säulen im Vordergrund, so erscheint doch ihre Verwendung in der forensischen Praxis etwas problematischer. Vor allem, wenn es um Organextrakte geht, die neben geringsten Mengen synthetischer Arzneimittel in größeren Mengen auch höher-molekulare, leicht adsorbierbare Substanzen enthalten. Wir versuchten zunächst, nach der angegebenen Gebrauchsanleitung sowohl mit den erhältlichen Fertigsäulen als auch mit analogen selbstgefüllten Säulen Arzneimittel aus Harnproben zu isolieren. Verwendung fanden dabei Styroldivinylbenzol-Polymere mit der Handelsbezeichnung Amberlite XAD-2 mit einem durchschnittlichen Porendurchmesser von 90 Å. Aus zwei Gründen waren die anfänglichen Ergebnisse nicht sehr befriedigend:

1. Die Ausbeuten waren nur in den seltensten Fällen quantitativ. Mulé [1] hat die Abhängigkeit der prozentuell adsorbierten Substanzen vom pH-Wert bestimmt und diese über den weiten Bereich von pH 2—10 konstant gefunden. Für Phenobarbital betragen die adsorbierten Anteile etwa 100%, für Morphin etwa 70%. Bei eigenen Untersuchungen ergab eine Pufferung des Harnes auf pH 9,5 mit

Ammoniak und Ammonchlorid in jedem Fall eine verringerte Ausbeute gegenüber der Verwendung des ungepufferten Harnes. Wie auch zu erwarten war, traten besonders bei stärker sauren Verbindungen, wie z. B. bei Salicylamid und Salicylsäure, in ammoniakalischer Lösung erhebliche Verluste auf; ähnliches konnte auch für relativ gut wasserlösliche Verbindungen, z. B. bei Veronal oder Pyramidon, beobachtet werden.

2. Eine Trennung in eine saure und basische Fraktion, wie sie wegen der verschiedenen Verteilungskoeffizienten für die jeweiligen Arzneimittel bei höherem oder niedrigerem pH-Wert zu erwarten wäre und auch vorgeschlagen wurde, ist auf diesem einfachen Wege nicht zu erzielen. So ließ sich aus Harn, der 2normal an Schwefelsäure war, Tofranil von Amytal und Seconal nicht trennen. Auch die Verwendung eines feinkörnigeren Materials brachte weder in der Ausbeute noch in der Trennung eine Verbesserung.

Als zweckmäßigstes Eluationsmittel verwendeten wir eine Mischung von Essigester-Dichloräthan (6:4). Andere Lösungsmittel, wie i-Propanol-Chloroform oder Methanol, eluierten zwar besser, gleichzeitig wurden jedoch auch Harnfarbstoffe vermehrt gelöst. Für die nachfolgende Identifizierung eignet sich die Dünnschichtchromatographie vorzüglich. Bei der Gaschromatographie treten Schwierigkeiten insofern auf, als eine Menge Substanzen gleichfalls aus dem Harn angereichert werden, die zu vielen Störpeaks führen. Der Zeitbedarf für die Einzelanalyse ist außerdem fast der gleiche wie für eine Extraktion mit einem Lösungsmittel, ähnlich wie es z. B. von Davidow [2] bei pH 9,5 beschrieben wird. Unerreicht bleiben nach wie vor die Ergebnisse bei getrennter saurer und basischer Extraktion (vorzugsweise kontinuierlich), die saubere Extrakte nach Aufarbeitung von Körperflüssigkeiten und Organen liefert und damit besonders leicht eine GC-Identifizierung ermöglicht. Die weiteren Schritte der Aufarbeitung, Eindampfen des Lösungsmittels, Herstellung der Lösung für die DC oder GC benötigen den gleichen Zeitaufwand. Auf der Suche nach anderen Adsorptionsmitteln prüften wir auch die Brauchbarkeit von Aktivkohle, die in Arbeiten als für die klinisch-chemische Analyse geeignet empfohlen wird [3]. Die Adsorption erfolgt zwar bei entsprechenden Mengen quantitativ, die Eluation jedoch nur in geringem Ausmaß, wobei die sauren Arzneimittel (Barbiturate) von Aktivkohle wesentlich besser zu eluieren

Schema 1

<i>Extraktion</i>	<i>XAD-2</i>
Sauer ↓ basisch	Sauer ↓ basisch
Trennung: sehr gut	Trennung: keine
Ausbeuten: 80—100%	Ausbeuten: 30—100%
Untergrund (GC): gut	Untergrund (GC): schlecht
<i>Aktivkohle</i>	<i>Kationenaustauscher</i>
Sauer ↓ basisch	Sauer ↓ basisch
Trennung: keine	Trennung: gut
Ausbeuten: 20—60%	Ausbeuten: 30—70%
Untergrund (GC): gut	Untergrund (GC): gut

sind als die basischen Arzneimittel. Eine Trennung bei verschiedenen pH-Werten ist ebenfalls nicht möglich. Für beide Adsorptionsmittel ergab sich bei experimentellen Reihen, daß Organextrakte nach entsprechender Aufarbeitung bei der Adsorption und nachfolgenden Eluation schlechte Ausbeuten liefern (bei Dünndarmextrakten oft unter 50%).

Eine Übersicht der geprüften Substanzen sowie die erzielten Ausbeuten für XAD-2 gibt zum Beispiel die nachfolgende Aufstellung:

Barbital	68%
Amobarbital	82%
Secobarbital	92%
Salicylamid	33%
Imipramin	30%
Amidopyrin	87%
Coffein	60%
Isoaminil (Peracon)	50%.

Verwendete Adsorptionsmittel:

- XAD-2 (Serva) 100—200 μ und 50—100 μ
- XAD-4 (Serva) 300—1000 μ
- Ionenaustauscher I (stark sauer, Merck) 0,4—0,6 mm
- Ionenaustauscher IV (schwach sauer, Merck) 0,3—0,5 mm
- Aktivkohle (Merck).

Dole [4] sowie Jaffe [5] verwendeten Kationenaustauscherpapiere, die nach Heaton u. Blumenberg [6] schlechte Ausbeuten brachten. Die Verwendung von Ionenaustauschern in kleinen Säulen, etwa 2 g Austauscherharz, brachte zwar eine selektive Trennung der sauren und basischen Arzneimittel, wobei die stark sauren Kationenaustauscher die bessere Trennung, aber die schlechteren Ausbeuten an basischen Arzneimitteln ergaben. Die schwach sauren Kationenaustauscher lieferten eine schlechte Trennung, dafür entsprach die Ausbeute ungefähr jener des XAD-2. In diesen Versuchen wurde die basische Fraktion durch den Austauscher abgetrennt und die saure Fraktion mittels Amberlit-XAD-2 isoliert. Als Eluationsmittel wurden Gemische von Wasser, Alkohol und Ammoniak sowie verdünnte Salzsäure, Kalilauge und Bariumchlorid verwendet. In keinem Fall war die Ausbeute mit jener der XAD-2-Säule zu vergleichen. Bei Verwendung von Anionenaustauschern konnte keinerlei Adsorption von sauren Arzneimitteln aus dem Harn erzielt werden, vermutlich infolge des Überschusses von Substanzen, die bevorzugt adsorbiert werden.

Einander gegenübergestellt, bieten die drei beschriebenen Adsorptionsverfahren folgende Charakteristika für die klinische bzw. toxikologisch-chemische Untersuchung (Schema 1). Daher kann zusammenfassend festgestellt werden, daß der Einsatz von Adsorptionsmitteln in der toxikologischen und forensischen Chemie nur nach kritischer Prüfung erfolgen sollte und von Fall zu Fall zu prüfen sein wird, ob sich der Einsatz lohnt. Bei Serienanalysen von Harnen auf Schlafmittel und andere Arzneimittel (Methadonprogramm) mögen diese Methoden gewisse Vorteile bieten.

Literatur

1. Bastos, M. L., Jukofsky, D., Saffer, E., Chedekel, M., Mulé, S. J.: Modifikationen of the XAD-2 resin column method for the extraction of drugs of abuse from human urine. *J. Chromatog.* **71**, 549—553 (1972)
2. Davidow, B., Petri, N. L., Quame, B.: A thin-layer chromatographic screening procedure for detecting drug abuse. *Amer. J. clin. Path.* **50**, 714 (1968)
3. Adams, R. F.: Drug analysis by simultaneous dual column GLC. Part I: Very rapid clinical screening for restricted drugs in serum. *Clin. chem. Newsletters* **4**, 15 (1972). Part II: Rapid screening of urine samples for restricted drugs. *Clin. chem. Newsletters* **4**, 22 (1972)
4. Dole, V. P., Kim, W. K., Englitis, T.: Detection of narcotic drugs, tranquilizers, amphetamines and barbiturates in urine. *J. Amer. med. Ass.* **198**, 349 (1966)
5. Kaistha, K. K., Jaffe, J. H.: Extraction techniques for narcotics, barbiturates and central nervous system stimulants in a drug abuse urine screening program. *J. Chromatog.* **60**, 83 (1971)
6. Heaton, A. M., Blumberg, A. G.: Thin-layer chromatographic detection of barbiturates, narcotics and amphetamines in urine of patients receiving psychotropic drugs. *J. Chromatog.* **41**, 367 (1969)

Prof. Dr. G. Machata
Institut für gerichtliche Medizin
der Universität
A-1090 Wien, Sensengasse 2
Österreich