

Eine einfache gas-chromatographische Methode zur Bestimmung von 2,2-Diäthylallylacetamid im Serum bei Vergiftungen

W. R. Külpmann

Institut für Klinische Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover, Karl-Wiechert-Allee 9, D-3000 Hannover 61, Bundesrepublik Deutschland

A Simple Gas-Chromatographic Method for the Determination of 2,2-Diethylallylacetamide in Serum and its Application in Cases of Poisoning

Summary. A simple gas-chromatographic method for the determination of 2,2-diethylallylacetamide is described. A saturated solution of ammonium sulfate is added to 1 ml serum and the mixture is extracted by chloroform. The organic phase is evaporated. The residue is dissolved in ethylacetate/acetic acid and injected into the gas-chromatograph. The coefficient of variation for the precision in the series is 8,5 %, the recovery 76 %, the detection limit 3,2 $\mu\text{mol/l}$. The extract can be used for the determination of other hypnotics, e.g. barbiturates or carbromal. In cases of poisoning the concentration of 2,2-diethylallylacetamide exceeded 700 $\mu\text{mol/l}$.

Key words: 2,2-Diethylallylacetamide, gas-chromatography – Poisoning, diethylallylacetamide.

Zusammenfassung. Es wird eine einfache gas-chromatographische Methode zur Bestimmung von 2,2-Diäthylallylacetamid beschrieben. Die Serumprobe wird mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt und mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wird eingedampft, der Rückstand in Äthylacetat/Eisessig gelöst und in den Gaschromatographen injiziert. Der Variationskoeffizient für die Präzision in der Serie beträgt 8,5 %, die Wiederfindung 76 %, die Nachweisgrenze 3,2 $\mu\text{mol/l}$. Der Extrakt kann auch zur Bestimmung anderer Schlafmittel benutzt werden. Die höchsten, bei schweren 2,2-Diäthylallylacetamid-Vergiftungen gemessenen Konzentrationen betragen über 700 $\mu\text{mol/l}$.

Schlüsselwörter: 2,2-Diäthylallylacetamid, Gas-Chromatographie – Vergiftung, Diäthylallylacetamid.

Nicht zuletzt auf Grund der besorgniserregenden Zahlen, die von Schwabe (1977) und von v. Clarmann (1977) vorgelegt wurden, ist nun auch in der Bundesrepublik Deutschland die Verschreibungspflicht für Bromureide eingeführt worden. Mit dem Bekannt-

werden dieser Absicht nahm der Abusus von 2,2-Diäthylallylacetamid (DA), einem bis dahin nicht rezeptpflichtigen Hypnoticum, zu. Von Fehn und Megges (1977) sowie von v. Mühlendahl und Krienke (1977) wurden bereits tödliche Vergiftungen berichtet.

Wegen der zunehmenden toxikologischen Bedeutung sollte eine einfache und rasche gas-chromatographische Methode zur Bestimmung von DA entwickelt werden. Durch Verfolgung der Serumkonzentration von DA bei vergifteten Patienten sollten Anhaltspunkte für die Beurteilung der Schwere der Intoxikation gewonnen werden, um die Wahl einer angemessenen Therapie und ihre Überwachung zu erleichtern und eine Abschätzung der Prognose zu erlauben.

Material und Methodik

2,2-Diäthylallylacetamid (Much, Bad Soden), relative Molekülmasse 155,2 wird in Äthylacetat/Eisessig (100 ml + 1 ml) gelöst (Konzentration 1 g/l.) Die Lösung ist bei 4°C 6 Monate haltbar. Der Nachweis auf der Dünnschichtplatte (Kieselgel 60 beschichtete Aluminiumfolie, Schichtdicke 0,25 mm; Merck, Darmstadt) erfolgt mit wässriger Kaliumpermanganatlösung (10 g/l). Die gaschromatographische Bestimmung erfolgt an einem Varian 1400 mit Flammenionisationsdetektor. Es wird eine 1,8 m lange silikonisierte Glassäule, die mit 3 % OV-101 auf Chromosorb WHP, 100–120 mesh, gefüllt ist, bei 150°C verwendet. Die relative Retentionszeit bezogen auf Hexobarbital beträgt 0,27.

1 ml Serum wird mit 2 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt und dreimal mit 5 ml Chloroform extrahiert. Die organische Phase läßt man zum Trocknen eine mit ca. 3 g Natriumsulfat gefüllte Glassäule durchlaufen und dampft das Eluat ein. Der Rückstand wird in Äthylacetat/Eisessig (100 ml + 1 ml) aufgenommen; 2 µl werden in den Gas-Chromatographen eingespritzt.

Ergebnisse

Zur Bestimmung der Präzision in der Serie wird je 1 ml eines schlafmittelfreien Serums mit 64,4 nmol (10 µg) 2,2-Diäthylallylacetamid (DA) aufgestockt. Der Variationskoeffizient beträgt für n=10 8,5 %. Die Wiederfindung des zugesetzten DA wird zu 76 % bestimmt. Von den ca. 100 untersuchten Medikamenten können wegen der ähnlichen Retentionszeit Acidum acetylosalicylicum, Methamphetamin und Phenylbutazon stören. Eine sichere Unterscheidung gelingt durch gas-chromatographische Analyse an Cyclohexandimethanolsuccinatpolyester (CDMS) (3 % CDMS auf Chromosorb WHP, 100–120 mesh). Beim Vergleich der Analyseergebnisse von „echten“ Proben, die durch intraperitoneale Injektion von DA in Wistarratten gewonnen wurden, vor und nach zusätzlicher Dünnschichtchromatographie (System Äthylacetat/Methanol/Ammoniak [25 %] 170 ml + 20 ml + 10 ml) ergibt sich eine befriedigende Übereinstimmung. Ein typisches Gaschromatogramm von einem Serumextrakt eines vergifteten Patienten ist auf Abbildung 1 dargestellt. Zur Abschätzung der Nachweisgrenze wird die dreifache Standardabweichung (3 x s) bei niedriger Konzentration bestimmt. Sie beträgt bei 12,9 nmol/ml (2 µg/ml) 3,2 µmol/l.

Der Nachweis von DA gelingt in etwa 1 Stunde; für die quantitative Bestimmung wird eine halbe Stunde zusätzlich benötigt. Der gleiche Extrakt kann – je nach Hypnoticum – unter denselben oder anderen gas-chromatographischen Bedingungen auch zur Bestimmung anderer Schlafmittel, z. B. Barbiturate oder Carbromal, verwendet werden. Der Zusatz von gesättigter Ammoniumsulfatlösung führt zu Gas-Chromatogrammen, die deutlich weniger Verunreinigungen enthalten als bei alleiniger Chloroformextraktion (Brinkschulte 1975). Insbesondere werden die anschließenden gas-

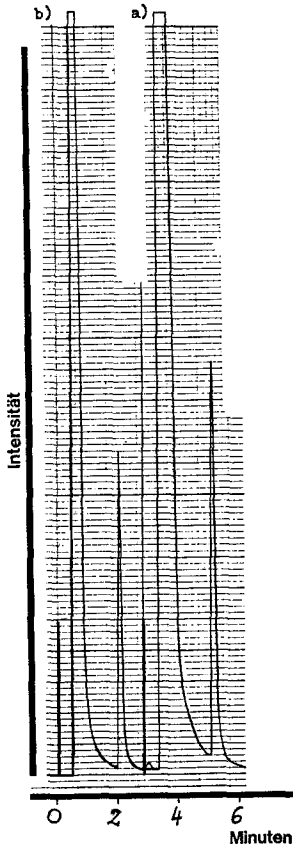


Abb. 1. a. Gaschromatogramm von 6,4 nmol ($1 \mu\text{g}$) 2,2-Diäthylallylacetamid. Abb. 1. b. Gaschromatogramm eines Serums von einer Vergiftung mit 2,2-Diäthylallylacetamid ($567 \mu\text{mol/l}$)

chromatographischen Analysen nicht durch Substanzen mit großer Retentionszeit gestört.

Die von uns beobachteten DA-Vergiftungen verliefen wie folgt:

1. Der 20-jährige, männliche Patient A nahm gegen 15 Uhr mindestens 30 Tabletten Novo-Dolestan[®] (1 Tablette enthält 300 mg DA und 25 mg Diphenhydramin-HCl) ein. Er wird 2 Stunden später bewußtlos aufgefunden. Der Patient befindet sich bei der Aufnahme gegen 23 Uhr im Komastadium III nach Matthew und Lawson (1966). Auffällig ist eine leichte Anisokorie. Es wird eine Magenspülung durchgeführt und die forcierte Diurese eingeleitet. Am 2. Tag, 15 Stunden nach der Tabletteneinnahme, ist der Patient bei einer Serumkonzentration von $496 \mu\text{mol/l}$ im Komastadium II–III, 24 Stunden später bei einer Serumkonzentration von $64 \mu\text{mol/l}$ wach und ansprechbar. Die Konzentration von DA im Serum in Abhängigkeit von der Zeit ist in Abbildung 2 (A) dargestellt.

2. Die 42-jährige Patientin C unternimmt gegen 22 Uhr einen Selbstmordversuch mit ca. 40 Tabletten Betadorm[®] (1 Tabl. enthält 20 mg Diphenhydramin-HCl und 480 mg Carbromal). Bei der Röntgenuntersuchung der komatösen Pat. (Stadium III) fällt schattengebendes Material im Oberbauch auf. Unter der Annahme einer Vergiftung mit Bromureiden wird eine Gastrotomie durchgeführt. Es werden reichlich Tablettenreste entfernt. Unter forcierter Diurese wacht die Patientin 34 Stunden nach Einnahme

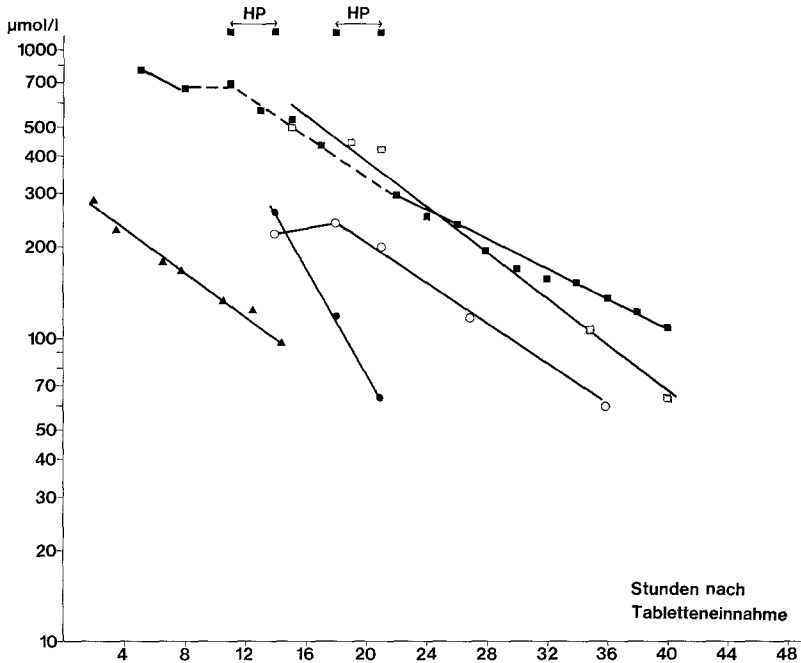


Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der 2,2-Diäthylallylacetamidkonzentration im Serum bei Vergiftungen. Patient A □-□-□ DA-Acetamid; Patient C ●-●-● DA-Acetamid; ○-○-○ Carbromal; Patient D ▲-▲-▲ DA-Acetamid; Patient E ■-■-■ DA-Acetamid; ■-■-■ Dauer der Hämoperfusion

der Tabletten auf. Sie wird 7 Tage später nach Konsultation des Psychiaters entlassen. Bei der toxikologischen Untersuchung findet sich in Blut und Magensaft Carbromal und 2,2-Diäthylallylacetamid. Die Konzentration der Hypnotica im Serum in Abhängigkeit von der Zeit ist in Abbildung 2 (C) dargestellt.

3. Die Patientin D (27 Jahre) fällt gegen 10.00 Uhr, ca. 1 Stunde nach Einnahme von 30 Tabletten Valium® (1 Tablette enthält 10 mg Diazepam) und einer unbekanntem Menge Novo-Dolestan® (s. o.) bewusstlos vom Stuhl. Bei der Aufnahme (11.30) befindet sich die Frau im Komastadium II. Die Pupillen reagieren träge auf Licht. Bei der Magenspülung werden reichlich Tablettenreste entfernt. Es wird eine forcierte Diurese eingeleitet. Gegen 16.00 Uhr reagiert die Pat. auf Anruf. Sie ist am nächsten Morgen aggressiv und wird wegen Suizidgefährdung in eine geschlossene Abteilung verlegt. Nach Auskunft von Bekannten handelt es sich um den 2. Selbstmordversuch innerhalb von 5 Wochen wegen eines Ehekonfliktes. Die toxikologische Analyse ergibt Diazepam und 2,2-Diäthylallylacetamid. Der zeitliche Verlauf der Serumkonzentration des Hypnoticums ist in Abb. 2 (D) dargestellt.

4. Der 37-jährige Patient E nimmt gegen 14.000 Uhr ca. 80 Tabletten Novo-Dolestan® (s. o.) und Alkohol zu sich. Er wird um 16.50 komatös aufgefunden. Bei der Erstversorgung wird der Magen gespült und mit der künstlichen Beatmung begonnen. Bei der Aufnahme lassen sich endoskopisch noch reichlich Tablettenreste aus dem Magen entfernen. Wegen des tiefen Koma (Stadium IV) wird ca. 11 Stunden nach Tabletteneinnahme eine Hämoperfusion über 3 Stunden mittels Hämocol® (Fresenius,

Bad Homburg) durchgeführt, die am gleichen Tag wiederholt wird. Unter Fortführung der forcierten Diurese ist der Patient 40 Stunden nach der Tabletteneinnahme im Komastadium I. An diesem und dem folgenden Tag treten zeitweilig Kammertachykardien infolge ventrikulärer Extrasystolen auf. Es handelt sich um einen seit ca. 20 Jahren Alkoholkranken, der bereits 3 erfolglose Entziehungskuren absolviert hat, nach dem 10. Suizidversuch. Er ist an jeweils täglich 40 Zigaretten, 1 Flasche Weinbrand und 8 Tabletten Valium-10[®] (1 Tabl. à 10 mg Diazepam) gewöhnt. Der zeitliche Abfall der DA-Konzentration ist in Abbildung 2 (E) dargestellt.

Diskussion

Wie sich aus Abbildung 2 ergibt, beträgt die Halbwertszeit von DA im Serum bei den Patienten A, D und E ca. 8 Stunden. Lediglich bei C findet sich nach operativer Entleerung des Magens eine fast doppelt so schnelle Elimination des Hypnoticums. Wie bereits von v. Mühlendahl et al. (1977) vermutet, gelingt es also mittels forciertes Diurese allein nicht, eine beschleunigte Ausscheidung von DA zu erreichen. Ob nach zusätzlicher Unterbrechung der Nachresorption die Halbwertszeit verkürzt werden kann, ist im Fall C, einer Mischintoxikation, schlecht beweisbar. Die Hämoperfusion hat nur zu einer leichten Beschleunigung der Elimination geführt; ein anderes Adsorbens könnte zu einem besseren Ergebnis führen. Bei einer Konzentration von ca. 60–100 $\mu\text{mol/l}$ DA im Serum erwachen die Patienten, bei ca. 100–200 $\mu\text{mol/l}$ befinden sie sich im Komastadium I. Die Wahl der Therapie muß sich orientieren an a) dem klinischen Bild und b) an der Serumkonzentration unter Berücksichtigung der seit der Tabletteneinnahme vergangenen Zeit. Als Komplikation wurden auch von uns die von v. Mühlendahl (1977) beschriebenen ventrikulären Extrasystolen beobachtet.

Herrn Prof. Dr. F. Hartmann, geschäftsf. Direktor des Departments für Innere Medizin der Medizinischen Hochschule Hannover, danke ich für die Überlassung der Krankengeschichten.
Herrn K. Petry danke ich für die zuverlässige Mitarbeit bei der Durchführung der Bestimmungen

Literatur

- Brinkschulte, M: Stoffwechsel von 2,2-Diäthylallylacetamid in vivo und in vitro. Dissertation Tübingen 1975
- Fehn, J., Megges, G.: Nachweis und quantitative Bestimmung von 2,2-Diäthyl-4-pentenamid bei einer tödlichen Vergiftung. Z. Rechtsmed. 80, 69–71 (1977)
- Matthew, H., Lawson, A. A.: Acute barbiturate poisoning – a review of two years experience. Quart. J. Med. 35, 539–552 (1966)
- Schwabe, U.: Jährlich 1000 Todesfälle durch rezeptfreie Bromcarbamidhaltige Schlafmittel in der Bundesrepublik? Dtsch. Med. Wschr. 102, 885–888 (1977)
- Clarmann, M. v.: Übersicht der häufigsten Vergiftungen und ihre Differentialdiagnostik. Intensivbehdg. 2, 1–6 (1977)
- Mühlendahl, K. E., v., Krienke, E. G.: Vergiftungen mit Novonal (Diaethylallylacetamid). Dtsch. Med. Wschr. 102, 1591–1593 (1977)

Eingegangen am 3. Juli 1978