

## Verhalten von 2'-Hydroxymethylmethaqualon-Glucuronid bei der Spaltung mit Salzsäure

S. Goenechea, K. Kobbe und K.-J. Goebel

Institut für Rechtsmedizin der Universität Bonn, Stiftsplatz 12, D-5300 Bonn 1,  
Bundesrepublik Deutschland

### Behaviour of Hydroxymethyl-Methaqualone-Glucuronide in Hydrolysis with Hydrochloric Acid

**Summary.** The behaviour of the glucuronide derivative of 2'-hydroxymethyl-methaqualone with hydrochloric acid was investigated. Three methods of hydrolysis were selected. With method I (12—13% HCl; 30 min at 100°C) about 27% and with method II (20% HCl; 6 min heated azeotrope in open vessel) about 94—95% of the glucuronide derivative was hydrolyzed. With method III (approx. 5% HCl; 30 min at 100°C) only about 3% of the conjugated compound was converted to the free form.

**Key words:** 2'-Hydroxymethyl-methaqualone - Glucuronide, hydrolysis - Methaqualone

**Zusammenfassung.** Das Glucuronsäurederivat von 2'-Hydroxymethylmethaqualon wurde unter verschiedenen Bedingungen mit Salzsäure hydrolysiert. Mit Methode I (12—13% HCl; 30 min im kochenden Wasserbad) wurden nur etwa 27% des Glucuronids gespalten. Mit Methode II (20% HCl; 6 min azeotrop erhitzt) war die Spaltung fast vollständig (94—95%). Methode III (ca. 5% HCl; 30 min im kochenden Wasserbad unter Rückfluß) brachte die schlechtesten Ergebnisse; nur ca. 3% des Glucuronids wurden gespalten.

**Schlüsselwörter:** 2'-Hydroxymethylmethaqualon - Glucuronid, Hydrolyse - Methaqualon

Methaqualon (2-Methyl-3-o-tolyl-4(3H)-chinazolinon) wird im Körper fast vollständig metabolisiert. Im Urin findet man hauptsächlich hydroxylierte Derivate, die vorwiegend als Konjugate vorliegen (Nowak et al. 1966; Preuß et al. 1966).

Die Spaltung der Konjugate erfolgt meistens mit Salzsäure. Die Hydrolysebedingungen sind dabei sehr unterschiedlich.

Bonnichsen et al. (1974) hydrolysieren 1 h im kochenden Wasserbad mit etwa 3%iger Salzsäure; Geldmacher-v. Mallinckrodt et al. (1970) empfehlen die Hydro-

*Sonderdruckanfragen an:* Prof. Dr. S. Goenechea (Adresse siehe oben)

lyse auf dem Drahtnetz im offenen Gefäß mit 20%iger Salzsäure. Es ist kaum vorstellbar, daß derartig unterschiedliche Methoden vergleichbare Ergebnisse liefern.

Wir haben in Anlehnung an unsere Untersuchungen mit Morphin-3-glucuronid (Goenechea et al. 1978a), Codein-6-glucuronid (Goenechea et al. 1978b) und p-Nitrophenolglucuronid (Goenechea et al. 1979) das 2'-Hydroxymethylmethaqualon<sup>1</sup>-Glucuronid synthetisiert und es unter den in den vorangegangenen Arbeiten ausgesuchten Hydrolysebedingungen mit Salzsäure hydrolysiert.

Auch hier wurde das Verhalten des freien 2'-Hydroxymethylmethaqualon selbst unter den gleichen Bedingungen untersucht.

## Arbeitsmethodik

### *Synthese von 2'-Hydroxymethylmethaqualon*

Sie erfolgte nach der Methode von Cella (1974).

### *Synthese von 2'-Hydroxymethylmethaqualon-Glucuronid*

Sie erfolgte nach der Methode von Kobbe, K.

### *Hydrolyse von 2'-Hydroxymethylmethaqualon-Glucuronid*

Eine wäßrige Lösung der Reinsubstanz (15,9 mg pro Liter) wurde unter den folgenden Bedingungen hydrolysiert:

1. Methode I: Die Hydrolyse erfolgte mit 12—13% Salzsäure. Das Reaktionsgemisch wurde im offenen Gefäß im kochenden Wasserbad erhitzt.
2. Methode II (Geldmacher-v. Mallinckrodt et al. 1970; Schütz 1971): Die Hydrolyse erfolgte mit ca. 20% Salzsäure. Das Reaktionsgemisch wurde auf dem Drahtnetz 6 min im offenen Gefäß gekocht.
3. Methode III (Kamm et al. 1969): Es wurde mit ca. 5% Salzsäure 30 min lang im kochenden Wasserbad unter Rückfluß hydrolysiert.

### *Extraktion und quantitative Bestimmung*

Das freigesetzte 2'-Hydroxymethylmethaqualon wurde aus der Reaktionslösung mit jeweils 1,2 Volumina Chloroform zweimal bei einem pH von 1—2 extrahiert.

Nach Destillation des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 10 ml Methanol aufgenommen, die Extinktion bei 306—307 nm gemessen und daraus die Konzentration errechnet.

Es wurde ein Leitz-Unicam-Spektralphotometer Modell SP 800 B benutzt.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Wiedergewinnungsrate bei der Extraktion von 2'-Hydroxymethylmethaqualon unter den angegebenen Bedingungen betrug 93,7% ( $n = 7$ ). Bei der Hydrolyse der freien Verbindung gingen mit Methode II 1,8% ( $n = 4$ ) Substanz verloren; mit Methode I lagen die Verluste unter 1% ( $n = 5$ ). Da letztere Verluste

<sup>1</sup> 2-Methyl-3-(2'-hydroxymethylphenyl)-4(3H)-chinazolinon

**Tabelle 1.** Ergebnisse der Spaltung von 2'-Hydroxymethylmethaqualon-Glucuronid bei der Hydrolyse mit Salzsäure

Methode	Gespalten	Nicht gespalten
I (n = 5)	27,2%	72,8%
II (n = 5)	94,5%	5,5%
III (n = 4)	3,3%	96,7%

so gering waren, wurde auf eine Untersuchung unter den Bedingungen von Methode III verzichtet.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Glucuronidspaltung unter den angewandten Hydrolysebedingungen angegeben.

Mit 20% Salzsäure und Kochen auf dem Drahtnetz im offenen Gefäß wurden bei einer Hydrolysezeit von nur 6 min (Methode II) 94,5% des Glucuronids gespalten und somit die weitaus beste Ausbeute erhalten. Die Ergebnisse der Hydrolyse mit den beiden anderen Verfahren sind dagegen ausgesprochen schlecht. Mit Methode I wurden ca. 73%, mit Methode III ca. 97% des Glucuronids nicht gespalten.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse sowie die Ergebnisse der salzsauren Hydrolyse anderer synthetisierten Glucuronide (Goenechea et al. 1978 a, 1978 b, 1979) zeigen, daß die Spaltung der Glucuronidbindung um so vollständiger ist, je drastischer die Reaktionsbedingungen sind.

Bei der Hydrolyse der Konjugate ist man bestrebt, eine möglichst vollständige Spaltung zu erreichen; sie soll aber für die freigesetzte Verbindung möglichst verlustarm verlaufen.

Es wäre deshalb verfrüht, aus unseren bisherigen Untersuchungen allgemeine Schlußfolgerungen über die Eignung oder Nichteignung bestimmter Verfahren zu ziehen.

Es ist erforderlich, auf diesem Gebiet viel mehr Erfahrung zu sammeln, bevor man — falls überhaupt möglich — hinsichtlich der Hydrolysebedingungen allgemeine Empfehlungen geben kann. Es ist allerdings nicht zu erwarten, daß man Reaktionsbedingungen findet, unter denen die Konjugatspaltung für alle Verbindungen optimal oder annähernd optimal erreicht wird.

Ein gutes Beispiel für diese Problematik bieten die Benzodiazepine. Sie und ihre Konjugate werden schon unter milden Bedingungen mit Salzsäure in Artefakte umgewandelt, die glücklicherweise sehr gut nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden können.

Es trifft sicherlich für andere Verbindungen nicht zu, daß eine so nachweisgünstige Umwandlung wie bei den Benzodiazepinen eintritt. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen erneut die Problematik des Vergleichs der eigenen quantitativen Analyseergebnisse mit den veröffentlichten Daten. Bei ihren quantitativen Untersuchungen spalteten Ericsson et al. (1977) die Konjugate der Methaqualonmetaboliten enzymatisch; hierbei sind Aglykonausbeuten von 90% und mehr zu erwarten:

Erfolgt die Spaltung jedoch mit Salzsäure, so kann man solche Ausbeuten an 2'-Hydroxymethylmethaqualon nur erwarten, wenn sehr drastische Hydrolysebedingungen — wie in dieser Arbeit unter Methode II — angewandt werden.

## Literatur

1. Bonnichsen R, Marde Y, Ryhage R (1974) Identification of free and conjugated metabolites of methaqualone by gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem* 20:230-235
2. Cella JA (1974) Preparation of 2-methyl-3-(2'-hydroxymethyl)-phenyl-4(3H)-quinazolinone: A metabolite of methaqualone. *J Pharmacol Sci* 63:1627
3. Ericsson Ö, Danielsson B (1977) Urinary excretion pattern of methaqualone metabolites in man. *Drug Metabol Dispos* 5:497-502
4. Geldmacher-v. Mallinckrodt M, Mang U (1970) Schnellnachweis von Metaboliten des Methaqualon und der Chlordiazepoxid-Gruppe im Harn. *Z Klin Chem Biochem* 8:259-262
5. Goenechea S, Goebel KJ (1978a) Verhalten von Morphin-3-Glucuronid bei der Hydrolyse mit Salzsäure. *Beiträge Gerichtl Med* 36:503-507
6. Goenechea S, Kobbe K, Goebel KJ (1978b) Verhalten von Codein und Codein-6-Glucuronid bei der Hydrolyse mit Salzsäure. *Arzneimit Forsch* 28:1070-1071
7. Goenechea S, Kobbe K, Goebel KJ (1979) Verhalten von p-Nitrophenolglucuronid bei der Spaltung mit Mineralsäuren. *Z Rechtsmed* 83:77-80
8. Kobbe K (1980) Dissertation (in Vorbereitung)
9. Nowak H, Schorre G, Struller R (1966) Untersuchungen zum Metabolismus von Methaqualon. *Arzneimit Forsch* 16:407-411
10. Preuß FrR, Hassler HM, Köpf R (1966) Zur Biotransformation des 2-Methyl-3-o-tolyl-4(3H)-chinazolinon (Methaqualon). *Arzneimit Forsch* 16:401-407

Eingegangen am 21. September 1979