

Note

Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Pemolin im Harn nach Einnahme therapeutischer Dosen

S. GOENECHEA und G. M. WAGNER

Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Bonn, Stiftsplatz 12, 53 Bonn (B.R.D.)

(Eingegangen am 23. März 1977; geänderte Fassung eingegangen am 2. Mai 1977)

Pemolin (5-Phenyl-2-imino-4-oxazolidon) wird als Psychoenergetikum verwendet¹. Für den Pemolinnachweis nach Körperpassage sind papier- und dünn-schichtchromatographische Verfahren beschrieben worden^{2,3}. Auch die Hochdruck-flüssigchromatographie ist für den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Pemolin im Harn benutzt worden⁴. Die beschriebenen Verfahren eignen sich aber nur für Untersuchungen, die gezielt auf diese Substanz oder auf Stimulantia vorgenommen werden.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Möglichkeit, eine Pemolineinnahme nachzuweisen, auch wenn die Harnanalyse im Rahmen einer allgemeinen chemisch-toxikologischen Routineuntersuchung durchgeführt wird.

METHODIK

Für die Untersuchung standen fünf freiwillige Versuchspersonen zur Verfügung. Sie erhielten morgens nach dem Frühstück $1\frac{1}{2}$ Tabletten Tradon (entsprechend 30 mg Pemolin) *per os*; unmittelbar vor Versuchsbeginn wurde die Blase entleert und die erhaltene Harnprobe —als Blindprobe— genauso aufbereitet und untersucht wie die nachfolgenden. Nach Medikamenteneinnahme wurden die über 24 h zwanglos gelassenen Urinproben getrennt aufgehoben und untersucht.

Extraktion des Harnes

Der Spontanurin (jeweils die Gesamtmenge) wurde mit 10%iger HCl auf pH 1-2 gebracht und dreimal mit Chloroform extrahiert; die wässrige Phase wurde dann mit 10%iger NaOH-Lösung alkalisiert (pH 13-14) und erneut dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformextrakte wurden dann über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei ca. 40° unter vermindertem Druck destilliert. Die Rückstände wurden anschliessend dünn-schichtchromatographisch untersucht.

Dünnschichtchromatographie

Es wurden Platten von 200 × 200 mm benutzt, die nach dem Standardverfahren von Stahl⁵ mit Kieselgel G beschichtet wurden. Es wurde die Technik der zwei-dimensionalen Trennung angewandt. Fließmittel waren: (1) Chloroform-Methanol-25% Ammoniak-Lösung (90:10:0.5) (Richtung 1), und (2) N,N-Dimethylformamid-Essigsäureäthylester-*n*-Octanol (1:9:3 Tropfen)³ (Richtung 2). Vor der Behandlung

der Chromatogramme mit den Reagenzien wurden die Platten im Trockenschrank bei ca. 120° 5–10 min getrocknet.

Nachweis. Zuerst wurde mit einer 20%igen methanolischen KOH-Lösung besprüht und nach Trocknung mit dem kalten Föhn mit 1%iger methanolischer *m*-Dinitrobenzollösung nachbehandelt⁶. Für die Bestimmung der Nachweisgrenze wurden die Substanzlösungen mit Hilfe einer Mikropipette von 10 μ l Fassungsvermögen (Einteilung 1 μ l) auf die Platte aufgetragen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Pemolin ergibt mit dem Kaliumhydroxyd-*m*-Dinitrobenzol-Reagenz eine rot-violette Färbung, die nach ca. 19 min bei Raumtemperatur in einen orangen Farbton umschlägt. Mit diesem Reagenz kann man 1 μ g Pemolin nachweisen.

Bei der Untersuchung der Harnproben zeigte sich, dass unverändertes Pemolin bei allen 5 Probanden in dem ersten Spontanurin, der etwa 2 bis knapp 4 h nach Einnahme abgegeben wurde, nachweisbar war. In den meisten Fällen war es auch noch 24 h nach Versuchsbeginn auf dem Chromatogramm zu sehen. Pemolin trat immer in dem bei saurer Reaktion erhaltenen Extrakt auf und manchmal zusätzlich in dem bei pH 13–14 erhaltenen Chloroformextrakt.

Ausser Pemolin wurde in dem sauren Extrakt eine Substanz beobachtet, die sich mit dem Kaliumhydroxyd-*m*-Dinitrobenzol-Reagenz rot-violett anfärbte und wie Pemolin nach ca. 10 min eine orange Farbe annahm; diese Substanz trat nicht in den medikamentenfreien Harnproben auf. Spätere Untersuchungen haben ergeben⁷, dass es sich bei dieser Substanz um 5-Phenyloxazolidin-2,4-dion handelt. Das Auftreten von 5-Phenyloxazolidin-2,4-dion im Harn kann ein wichtiger Hinweis auf eine Pemolineinnahme sein. In manchen Fällen tritt es allein auf, vielfach z.B., wenn die Harnprobe nach dem Stas-Otto-Verfahren aufbereitet wird. Es zeigt mit dem Fließmittel 1 einen R_F -Wert von 0.15 (Pemolin $R_F = 0.38$), mit dem Fließmittel 2 einen R_F -Wert von 0.73 (Pemolin $R_F = 0.60$). Die Spezifität des Kaliumhydroxyd-*m*-Dinitrobenzol-Reagenz wurde an 20 Substanzen, die aus sauren Lösungen extrahierbar sind, geprüft; nur Methyprylon war anfärbbar⁶; diese Verbindung ergibt aber eine blau-violette Färbung und weist mit den hier verwendeten Fließmitteln einen ganz anderen R_F -Wert als Pemolin auf und kann somit von Pemolin und 5-Phenyloxazolidin-2,4-dion ohne weiteres unterschieden werden.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass eine Pemolineinnahme im Rahmen einer allgemeinen Routineanalyse von Harn mit der angegebenen dünn-schichtchromatographischen Methode festgestellt werden kann.

LITERATUR

- 1 G. Ehrhardt und H. Ruschig, *Arzneimittel: Entwicklung, Wirkung, Darstellung*, Verlag Chemie, Weinheim, 1972.
- 2 K. J. Freundt und G. Schwinger, *Arch. Toxikol.*, 20 (1964) 257.
- 3 H. Eberhardt und M. Debackere, *Arzneim.-Forsch.*, 15 (1965) 929.
- 4 G. P. Cartoni und F. Natalizia, *J. Chromatogr.*, 123 (1976) 474.
- 5 E. Stahl, *Dünnschichtchromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2. Aufl., 1967.
- 6 A. Dressler, *Arch. Toxikol.*, 17 (1959) 293.
- 7 S. Goenechea, G. Eckhardt und G. Gielsdorf, in Vorbereitung.