

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 48 (1957)

Heft: 3

Artikel: Papierchromatographischer Nachweis von Barbitursäurederivaten in toxikologischen Analysen

Autor: Bäumlér, J. / Müller, R.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983774>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 08.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

Offizielles Organ der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE

Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT:

Schweiz Fr. 17.— per Jahrgang (Ausland Fr. 22.—) Preis einzelner Hefte Fr. 3.— (Ausland Fr. 4.—)
Suisse fr. 17.— par année (étranger fr. 22.—) Prix des fascicules fr. 3.— (étranger fr. 4.—)

BAND — VOL. 48

1957

HEFT — FASC. 3

Papierchromatographischer Nachweis von Barbitursäurederivaten in toxikologischen Analysen

Von *J. Bäumler*

(Mitteilung aus dem kantonalen Laboratorium Basel, Vorstand: Dr. R. Müller)

In einer ersten Mitteilung¹⁾ haben wir die chemischen und physikalischen Eigenschaften von neueren Sedativa und Hypnotica der Barbitursäurereihe beschrieben. Zu deren Identifizierung benützten wir den Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, sowie einige allgemeine Reaktionen. Dieses Vorgehen, welches die grösstmögliche Sicherheit bietet, hat den Nachteil, dass aus dem Untersuchungsmaterial mindestens 3—5 mg kristallisierte Reinsubstanz gewonnen werden muss. Dabei bietet das Ueberführen eines öligen Extraktes — wie er nach der Aufarbeitung nach *Stas-Otto* meistens erhalten wird — in eine kristallisierte Form oft unüberwindliche Schwierigkeiten. Beim Verarbeiten von Lebensmitteln, Organen oder Körperflüssigkeiten nach *Stas-Otto* ist es immer nötig, die nach dem Verdampfen des Aethers verbleibenden Rückstände weiter zu reinigen, und zwar durch Sublimation und Umkristallisation, eventuell unter Zusatz von Tierkohle oder Aluminiumhydroxyd. Natürlich treten dabei wesentliche Verluste an Barbitursäuren auf, so dass zur Identifizierung das isolierte Material oft nicht ausreicht und höchstens noch eine Gruppenreaktion durchgeführt werden kann.

Bei Durchsicht der neueren Literatur fanden wir verschiedene Publikationen über den papierchromatographischen Nachweis von Barbitursäuren. Diese äusserst empfindliche Methode besitzt den Vorteil, dass erstens weniger Material und zweitens keine Kristalle benötigt werden.

In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir, in Anlehnung an die Vorschriften von *Deininger*²⁾, die Anwendung der papierchromatographischen Methode zum Nachweis und zur Trennung von Barbitursäuren und barbitursäureähnlichen Verbindungen. Die Erforschung neuer Barbiturate oder ähnlich wirksamer Verbindungen zielt dahin, Substanzen zu finden, die im Organismus möglichst rasch und vollständig abgebaut werden. Solche neue Pharmaka (vgl. Doriden, Medomin usw.) sind nur in geringsten Mengen im Urin nachweisbar, was einen weiteren Grund für die Einführung empfindlicherer Analysenmethoden darstellt.

I. Papierchromatographie

Wir benützten die eindimensionale aufsteigende Papierchromatographie, weil sie, was Handhabung und Geräte anbetrifft, am einfachsten und raschesten arbeitet und sich für Routineuntersuchungen am besten eignet.

a) Versuche mit Fliessmittelgemischen

Mit den von früheren Autoren³⁾ vorgeschlagenen Fliessmittelkombinationen (Butanol/wässriger Ammoniak oder Toluol/Essigsäure) konnten wir keine befriedigenden Resultate erhalten. Auf der Suche nach einem geeigneten Fliessmittel erzielte *Deininger*²⁾ recht brauchbare Chromatogramme mit Isopropanol/Ammoniak unter Zusatz von Chloroform. Auch wir konnten feststellen, dass in bezug auf Trennschärfe und Schwanzbildung dieses dreifache Gemisch den früheren Fliessmitteln deutlich überlegen ist. Um die günstigen Bedingungen der bei uns gebräuchlichen Arzneimittel zu eruieren, haben wir den Chloroformzusatz variiert. Tabelle 1 zeigt die Abhängigkeit des R_f -Wertes vom Chloroformzusatz.

In Tabelle 2 finden sich die R_f -Werte für das Fliessmittelgemisch Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25 %) = 60/30/10. Gleichzeitig ist daraus die Empfindlichkeit der Methode ersichtlich. Für die Bestimmungen verwendeten wir Substanzen, die wir aus Tabletten des Handels isoliert haben.

Abweichungen vom R_f -Wert um einige Hundertstel konnten immer wieder beobachtet werden. Diese Schwankungen, welche schwer zu vermeiden sind, entstehen durch geringe Aenderungen in der Konzentration des Fliessmittelgemisches; ebenso spielt eine grosse Rolle die Temperatur, die den Fliessmitteldampf in der Gasphase und die Wanderungsgeschwindigkeit stark beeinflusst.

Aus Tabelle 2 ist zu ersehen, dass eine sichere Unterscheidung sämtlicher Barbiturate mit obiger Methode nicht möglich ist; so liegen z.B. die R_f -Werte

Tabelle 1
 Abhängigkeit des R_f -Wertes vom Fließmittelgemisch

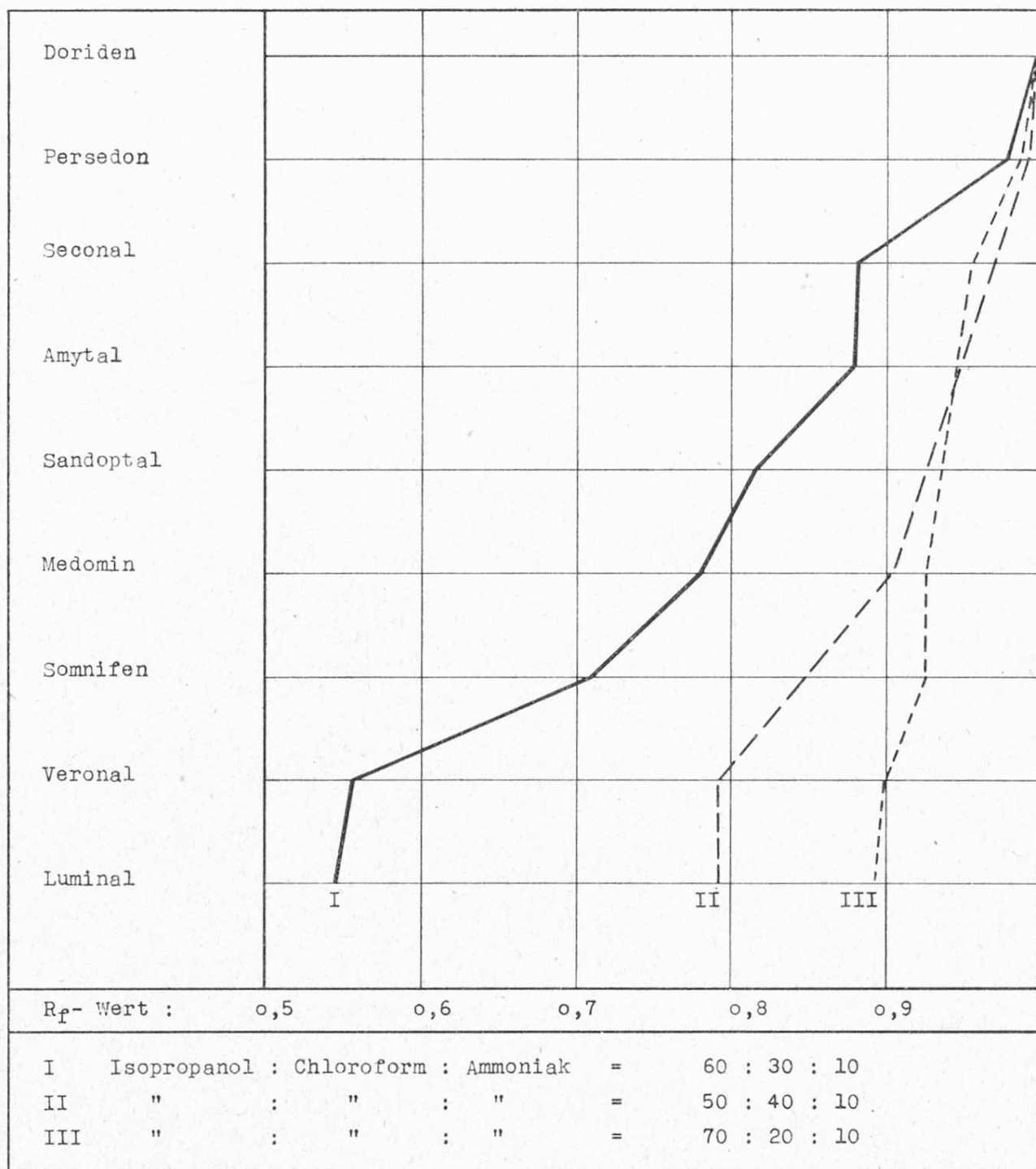


Tabelle 2

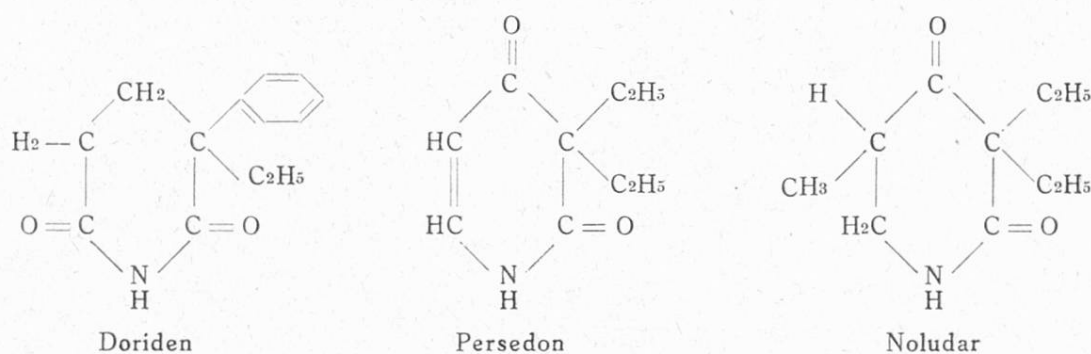
$ \begin{array}{c} R_1 \quad \quad \quad CO \text{---} NH \\ \quad \quad \quad \diagdown \quad \diagup \\ \quad \quad \quad C \quad \quad \quad \diagdown \quad \diagup \\ R_2 \quad \quad \quad CO \text{---} NR_3 \quad \quad \quad CO \end{array} $								
Name	R ₁	R ₂	R ₃		Rf-Wert	Empfindlichkeit		
						5 γ	10 γ	20 γ
Luminal	aethyl-	phenyl-	H	barbitursäure	0,54–0,56	±	++	++
Veronal	aethyl-	aethyl-	H	barbitursäure	0,56–0,58	±	++	++
Dial	allyl-	allyl-	H	barbitursäure	0,66–0,68	+	++	++
Somnifen	allyl-	isopropyl-	H	barbitursäure	0,72–0,74	—	++	++
Noctal	isopropyl-	β-bromallyl-	H	barbitursäure	0,75–0,77	—	++	++
Medomin	aethyl-	cycloheptenyl-	H	barbitursäure	0,76–0,78	—	++	++
Sandoptal	allyl-	isobutyl-	H	barbitursäure	0,80–0,82	+	++	++
Amytal	aethyl-	isoamyl-	H	barbitursäure	0,85–0,87	+	++	++
Seconal	allyl-	1-methylbutyl-	H	barbitursäure	0,87–0,90	+	++	++
Evipan	methyl-	cyclohexenyl-	CH ₃	barbitursäure	0,88–0,90	+	++	++
Persedon	3-aethyl-	3-aethyl-	—	2,4-dioxo-tetrahydro- pyridin	0,93–0,96	—	+	++
Doriden	α-aethyl-	α-phenyl-	—	glutarsäureimid	0,96–0,97	—	++	++

bei Veronal/Luminal, Seconal/Amytal, Doriden/Persedon sehr nahe beieinander. In solchen speziellen Fällen können durch Verwendung anderer Fliessmittel bessere Trennungen erzielt werden; so geben z.B. *Hübner* und *Pfeil* ⁴⁾ bei Anwendung des Gemisches Butanol/Amylalkohol/Ammoniak für Veronal und Luminal die R_f -Werte 0,31 und 0,37 an.

b) *Kennzeichnung der Barbitursäuren auf dem Papier*

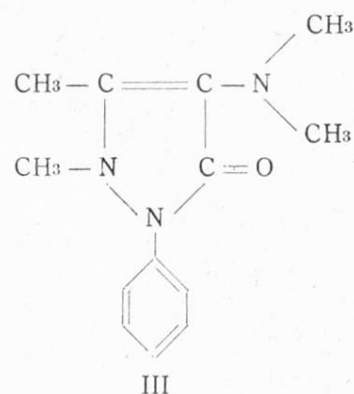
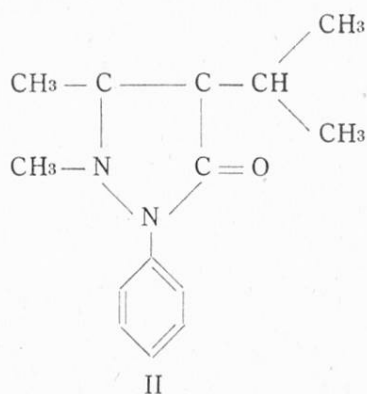
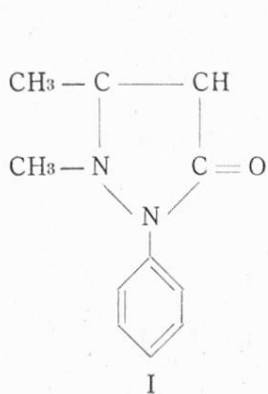
Am Startpunkt führten wir, wie weiter unten beschrieben wird, die Reaktion nach *Zwicker* durch, und nach dem Entwickeln des Chromatogramms benützten wir die Farbreaktion mit Quecksilber-I-nitrat zum Nachweis der Barbiturate. Die Sichtbarmachung erfolgt nicht, wie normalerweise bei der Papierchromatographie, durch Aufspritzen des Reagens, sondern durch Eintauchen des Papierstreifens in eine mit Quecksilber-I-nitrat gesättigte Lösung und anschliessendes Waschen mit Wasser. Die Quecksilberlösung kann mehrmals benützt werden. Die besten Chromatogramme erhielten wir bei Anwendung von 20—40 γ Barbitursäure; Mengen von über 100 γ ergaben zu grosse Flecken und dadurch eine unscharfe Trennung und ein Ineinanderlaufen der Farbflecken.

Einzig das Piperidinderivat Noludar kann mit dieser Farbreaktion nicht erfasst werden. Die Schlafmittel Doriden und Persedon, ebenfalls keine Barbiturate, geben deutliche graue bis schwarze Flecken.



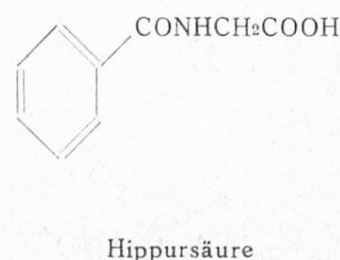
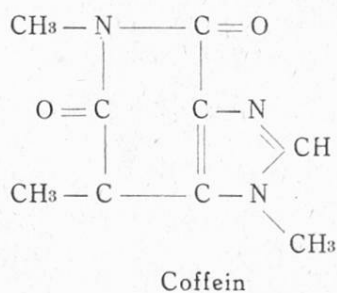
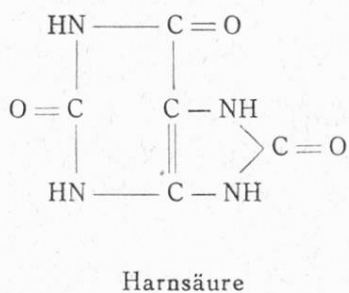
Vor der Farbentwicklung wird das Papier bei 60° getrocknet (Vertreiben des Ammoniaks), ansonst die erhaltenen Flecken sehr rasch ausbleichen. Lässt man das Papier trocknen und wäscht nachher in einer Photoschale, so bleiben die Farbflecken mehrere Tage lang sichtbar.

Die Farbreaktion mit Quecksilbernitrat geben auch die Analgetica der Pyrazolonreihe: Antipyrin (I), Isopropylantipyrin (II) und Dimethylaminoantipyrin (III).



Diese verursachen schwarze Flecken an der Laufmittelfront des Chromatogramms; sie besitzen also einen R_f -Wert von 1,0. Dadurch kann allenfalls der Nachweis von Doriden und Persedon behindert werden. In solchen Zweifelsfällen haben wir ein zweites Chromatogramm angefertigt und dieses mit einer 1%igen Eisen-III-chloridlösung bespritzt. Bei Anwesenheit von Pyrazolonderivaten treten an der Laufmittelfront rote bzw. violette Farbflecken auf gelblichem Hintergrund auf. Bereits 10—20 γ können so nachgewiesen werden.

Von Substanzen, welche ebenfalls in der weinsauren Aetherlösung vorliegen können, haben wir speziell Coffein, Hippursäure und Harnsäure geprüft.



Diese Verbindungen geben keine Verfärbungen mit Quecksilbernitrat und stören auch die Reaktion nach *Zwicker* am Startpunkt nicht.

c) Reaktion nach *Zwicker*

*Perlia*⁵⁾ beschrieb 1953 die Ausführung der *Zwickerschen* Reaktion als Tüpfelreaktion, und *Deininger* wandte die Modifikation am Startpunkt des Chromatogramms an. Wir haben seine Vorschrift in bezug auf Empfindlichkeit und ihren Einfluss auf den R_f -Wert überprüft. Die Resultate sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Während für die Reaktion nach *Zwicker* im Reagensglas mindestens 0,5—1 mg Substanz benötigt werden, können auf dem Papier noch 10 γ deutlich nachgewiesen werden. Mit Doriden und Persedon, welche im Reagensglas sehr schöne violette Färbungen ergeben, liess sich sogar mit einer Menge von 100 γ keine Reaktion feststellen.

Tabelle 3

Einfluss der Reaktion nach Zwikker auf den R_f -Wert und Empfindlichkeit

	I Rf-Wert mit Durchführung der Reaktion nach Zwikker	II Rf-Wert ohne Durchführung der Reaktion nach Zwikker	Empfindlichkeit der Reaktion nach Zwikker				
			5 γ	10 γ	20 γ	50 γ	100 γ
Doriden	0,98	0,99	—	—	—	—	—
Persedon	0,96	0,96	—	—	—	—	—
Seconal	0,89	0,87	—	+	++	++	
Amytal	0,88	0,87	—	++	++	++	
Sandoptal	0,83	0,82	+	+	++	++	
Medomin	0,74	0,76	+	++	++		
Somnifen	0,75	0,75	+	+	++		
Veronal	0,57	0,59	—	++	++	++	
Luminal	0,68	0,67	+	++	++	++	
Evipan	—	—	—	+	++	++	
Noctal	—	—	+	++	++		
Dial	—	—	+	++	++		

d) *Quantitative Auswertung*

Die papierchromatographische Methode erlaubt keine genauen quantitativen Aussagen. Immerhin gibt es zwei Möglichkeiten, die untersuchte Menge ungefähr abzuschätzen. Erstens kann aus der Fleckengrösse⁶⁾ auf die Menge geschlossen werden; mit Hilfe von Vergleichssubstanzen lässt sich die Fleckengrösse auf ca. 20—30 γ genau abschätzen. Zweitens ist eine quantitative Auswertung durch Bestimmung der Erfassungsgrenze möglich. Durch Verdünnung des Untersuchungsmaterials kann diejenige Konzentration, die gerade noch einen Flecken liefert (5—10 γ), ermittelt werden.

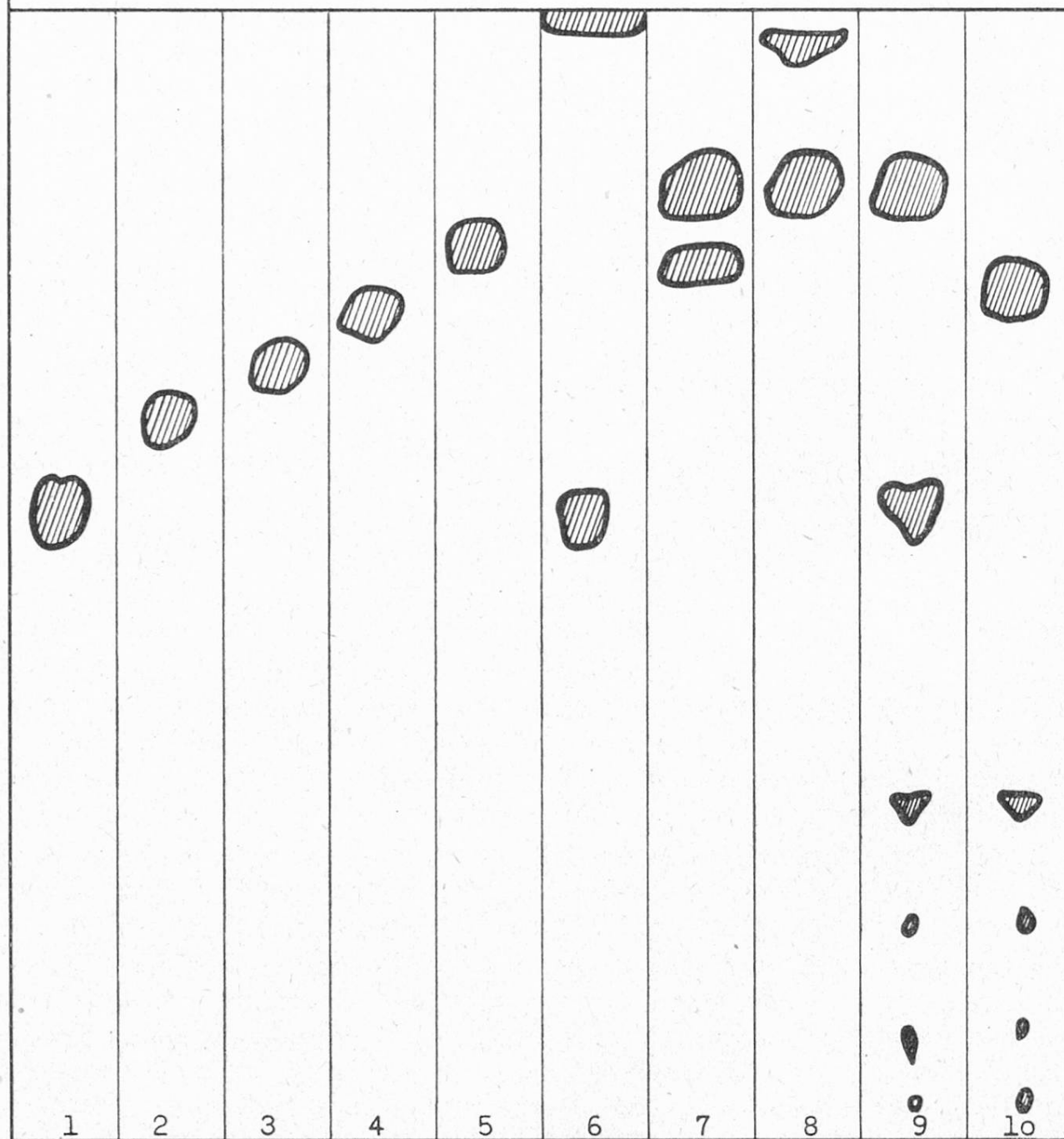
Durch dieses Vorgehen ist es möglich, mit einer Genauigkeit von 10—20 % Aufschluss über den Gehalt an Fremdstoffen zu erhalten, was für die Abklärung von Vergiftungsfällen von grossem Interesse ist.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die beschriebene papierchromatographische Methode eine Identifizierung und Trennung der einzelnen Barbitursäuren erlaubt. Zur Erhöhung der Sicherheit, was bei gerichtsschemischen Untersuchungen unbedingte Forderung ist, muss gleichzeitig mit der fraglichen Probe dieselbe Substanz als Testgemisch mitchromatographiert werden.

Abbildung 1 zeigt einige Chromatogramme von Barbituraten, die einzeln oder in Gemischen untersucht wurden.

Whatman Nr 1

Isopropanol 60%
Chloroform 30%
Ammoniak konz. 10%



- | | |
|-------------|----------------------------------------|
| 1. Veronal | 6. Luminal + Doriden |
| 2. Dial | 7. Seconal + Sandoptal |
| 3. Noctal | 8. Seconal + Persedon |
| 4. Somnifen | 9. Luminal + Seconal aus Urin isoliert |
| 5. Evipan | 10. Medomin aus Urin isoliert |

II. Isolierung

Normalerweise kann der nach dem Analysenverfahren von *Stas-Otto* erhaltene weinsaure Aetherextrakt verwendet werden. Bei Urin, welcher das häufigste Untersuchungsmaterial darstellt, genügt meistens eine einfachere Reinigung. Klarer, wenig verunreinigter Urin kann nach dem Versetzen mit verdünnter Schwefelsäure direkt mit Aether ausgeschüttelt werden. Sind die Aetherauszüge stark gefärbt, so können sie mit Tierkohle gereinigt oder wie folgt weiter behandelt werden: Ausziehen mit verdünnter Natronlauge, ansäuern der wässrigen Phase, erneutes Ausäthern. Alle weiteren Reinigungsoperationen sind mit einem Verlust an Barbitursäuren verbunden. Versuche von *Seifert*⁷⁾, die wir ebenfalls bestätigen können, zeigten, dass bei Verwendung von Tierkohle und Aluminiumoxyd, wie sie *Deiningner* empfiehlt, beträchtliche Mengen Barbitursäure adsorbiert werden.

Gelb gefärbte Aetherextrakte stören wohl die *Zwikkersche* Reaktion, nicht aber die Farbreaktion mit Quecksilbernitrat. Im Chromatogramm treten höchstens in der Nähe des Startpunktes (R_f -Wert 0—0,30), d.h. in einer Zone, in welcher keine Barbiturate zu erwarten sind, vereinzelt dunkle Flecken auf.

Organ- und Gewebeteile haben wir einem verkürzten Extraktionsverfahren unterzogen. Folgendes Beispiel soll die Einfachheit und Empfindlichkeit der beschriebenen Methode erläutern:

Anlässlich eines unklaren Todesfalles erhielten wir Blut, Leber, Niere, Dünndarm und wenig Mageninhalt zur Untersuchung auf Schlafmittel.

Wir extrahierten je 20 g Leber, Niere, Blut und Dünndarminhalt, sowie 10 g Mageninhalt mit 100 cm³ Aethanol und etwas Weinsäure während einer halben Stunde am Rückflusskühler. Nach dem Filtrieren dampften wir die alkoholische Lösung auf dem Wasserbad ein. Der Rückstand wurde in 40 cm³ Wasser aufgenommen, filtriert und zweimal mit Aether ausgeschüttelt. Der nach dem Trocknen und Verdampfen des Aethers verbleibende dunkelbraun gefärbte Extrakt wurde in 1 cm³ Methanol gelöst. Von dieser methanolischen Lösung wurde mit einer Mikropipette je 0,03 und 0,06 cm³ auf das Papier aufgetragen.

Bei allen Chromatogrammen zeigten sich bei einem R_f -Wert von 0,96 bis 0,97 graue Flecken, die auf der gleichen Höhe wie diejenigen des als Leitsub-

Tabelle 4

	R_f -Wert	R_f -Wert der Leitsubstanz Doriden	Geschätzte Menge
Blut	0,97	0,97	0,5–3,5 mg/100 g
Niere	0,96	0,96	1,4–4,0 mg/100 g
Leber	0,96	0,97	2,5–7,0 mg/100 g
Dünndarminhalt	0,97	0,97	2,5–5,0 mg/100 g
Mageninhalt	0,96	0,96	1,0–4,0 mg/ 10 g

stanz verwendeten Doridens lagen. Die R_f -Werte und die aus der Fleckengrösse geschätzten Mengen sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Aus dem Mageninhalt liessen sich nach weiterer Reinigung des Extraktes Kristalle gewinnen, die durch den Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt als Doriden charakterisiert werden konnten.

III. Methodik

Isolierung: 20 cm³ Urin werden nach dem Ansäuern mit wenig verdünnter Schwefelsäure zweimal mit 50 cm³ Aether ausgeschüttelt. Bei stark gefärbten Aetherlösungen wird unter Zusatz von Tierkohle erwärmt und nach dem Erkalten filtriert. Der nach dem Trocknen und Verdampfen des Aethers verbleibende ölige Rückstand wird in möglichst wenig Methanol gelöst und auf das Papier (Whatmann Nr. 1 oder Schleicher und Schüll 2043b) aufgetragen.

Vergleichslösungen: Die reinen Barbiturate werden in Methanol gelöst und die 20—30 γ Barbiturat entsprechende Menge mittels einer Mikropipette auf das Papier aufgetragen.

Reaktion nach Zwickler: Nach dem Trocknen der Filtrierpapierstreifen wird das Papier mit einer Schablone, die an den entsprechenden Stellen der Startpunkte durchlöchert ist ($\phi = 1-1,5$ cm), bedeckt und mit einer 2%igen Lösung eines Kobaltsalzes (z.B. Kobaltnitrat) in absolutem Alkohol bespritzt. Es soll nur einmal rasch mit der Spritzflasche über das Papier gefahren werden. Grössere Kobaltmengen stören die Sichtbarkeit der Farbreaktion und beeinflussen die Entwicklung des Chromatogramms. Das Filterpapier wird 10 Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet und anschliessend 30 Sekunden in das schon vorbereitete Chromatographiegefäss gehängt. Dabei muss ein Eintauchen der Papierstreifen in das Lösungsmittel verhindert werden. Beim Herausnehmen lässt sich die Farbreaktion beobachten: Leerversuche zeigen eine bräunliche Farbe, während positive Resultate an einer violetten Verfärbung erkannt werden. Nach ca. 5 Minuten verblassen die Farbflecken, können aber durch erneutes Einhängen in das Chromatographiegefäss nochmals sichtbar gemacht werden.

Papierchromatographie: Die Technik der Papierchromatographie darf als allgemein bekannt vorausgesetzt werden, so dass wir nur auf die wichtigsten Daten näher eingehen.

Die möglichst reinen Komponenten des Fliessmittels werden in der gewünschten Konzentration in einem Scheidetrichter gut gemischt und in die Schale des Chromatographiegefässes gefüllt. Das verwendete Fliessmittelgemisch setzt sich wie folgt zusammen:

Isopropanol	60 %
Chloroform	30 %
Ammoniak (25 %)	10 %

Gleichzeitig wird in das Chromatographiegefäss eine offene Flasche mit kon-

zentriertem Ammoniak (25⁰/oig) gestellt. Die Fliessmittel werden mindestens einen Tag vor dem Einhängen der Papierstreifen in den Chromatographietrog eingefüllt. Bei Serienuntersuchungen kann das verbrauchte Fliessmittel einfach wieder ersetzt werden. Die zu untersuchenden Substanzen sowie die Lösungen der Leitchromatogramme werden mit Hilfe einer Mikropipette am Startpunkt in der gewünschten Konzentration aufgetragen, die Filtrierpapiere getrocknet und ins Chromatographiegefäss gehängt.

Nach einer Laufzeit von 12—15 Stunden beträgt die Wanderungsstrecke des Fliessmittels ca. 25 cm, was für eine gute Trennung nötig ist.

Entwicklung der Farbflecken: Die Filtrierpapierstreifen werden zuerst bei Zimmertemperatur und anschliessend 10 Minuten bei 60⁰ getrocknet. Durch Eintauchen des Papiers in gesättigte Quecksilber-I-nitratlösung (ca. 1⁰/oig) entwickeln sich nach einer Minute bei positiver Reaktion blaugraue bis bräunlichgraue Flecken. Anschliessend wird das Papier noch dreimal je eine Minute in destilliertem Wasser gewaschen und getrocknet. Während des Eintauchens wird das Papier leicht hin und her bewegt.

Zusammenfassung

Es wird die papierchromatographische Trennung von Schlafmitteln der Barbitursäurereihe beschrieben.

Die Empfindlichkeit der *Zwikkerschen* Reaktion am Startpunkt des Chromatogrammes und der Farbreaktion mit Quecksilber-I-nitrat, sowie die Isolierung aus physiologischen Objekten wird diskutiert.

Résumé

Nous avons appliqué la chromatographie sur papier à l'identification des acides barbituriques.

Nous décrivons la méthode de la séparation dans des matières physiologiques, la sensibilité de la réaction d'après *Zwikker* au point de départ et la coloration au moyen du nitrate de mercure (I).

Summary

A method for the Paper Chromatography of barbituric acids is described.

The reaction according to *Zwikker* made at the starting point, the development of the chromatogram with mercurous nitrate and the separation of barbituric acids from biological objects are discussed.

Literatur

- 1) J. Bäumler, diese Mitt. **46**, 431 (1955).
- 2) R. Deininger, Arzneimittelforschung **5**, 472 (1955).
- 3) A. Wickström und B. Salvesson, J. of Pharm. and Pharmacol. **4**, 98 (1952).
- 4) G. Hübner und E. Pfeil, Hoppe Seyler's Ztschr. für physiol. Chem. **296**, 225 (1954).
- 5) X. Perlia, Diss. ETH, Zürich 1953.
- 6) F. Cramer, Papierchromatographie, Verlag Chemie 1952.
- 7) R. Seifert, Arzneimittelforschung **6**, 413 (1956).