

## Zum Nachweis von Theobromin und seinen Metaboliten im Harn\*

G. SCHMIDT und E. HEUNISCH

Institut für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität  
Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. WEINIG)

Eingegangen am 18. Juni 1965

Theobromin, 3,7-Dimethylxanthin, ist bisher in der forensisch-toxikologischen Analyse und in der Kriminalistik wenig beachtet worden. Seine Bedeutung ist nicht so groß wie die des Coffeins (SCHMIDT u. SCHOYERER, 1966), die Toxicität ist gering. Die Substanz ist aber nicht nur regelmäßiger Bestandteil von Zubereitungen aus Kakaobohnen (*Theobroma cacao*), z.B. Schokolade, Kakao, Pralinen, Torte usw., sondern sie kommt auch als Ausscheidungsprodukt von Coffein im menschlichen Harn in Betracht und ist in zahlreichen Arzneimitteln enthalten.

Deshalb sollte dem exakten quantitativen Nachweis dieser Substanz mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden als bisher. Wir hatten mehrfach Gelegenheit, bei Vergiftungsverdacht Schokolade, Pralinen oder biologisches Material auf Coffein und andere Xanthinderivate zu untersuchen. Als Giftträger haben Schokoladezubereitungen Verwendung gefunden, was auch den quantitativen Nachweis der normalen Extraktstoffe erforderlich macht.

Kakaobohnen enthalten 1—2 % Theobromin neben kleinen Mengen von Coffein, auch im Samen von Colafrüchten ist Theobromin in kleinen Mengen nachgewiesen worden (BOCK, 1920). Die Synthese der Xanthinderivate in der Pflanze soll über das Monomethyl- und Dimethyl- zum Trimethylderivat (Coffein) führen. In umgekehrter Reihenfolge wird der Abbau durch Demethylierung im Tierkörper vollzogen. Zahlreiche Untersuchungen über den Stoffwechsel und die Ausscheidung des Theobromins ergeben kein einheitliches Bild (KOBERT, 1906; BOCK, 1920; HARPUDER u. SCHITTENHELM, 1931; BUCHANAN et al. 1945; SOLLmann, 1949; CORNISH u. CHRISTMAN, 1957; WILLIAMS, 1959; KLEINER u. ORTEN, 1962; Büchi, 1963). BOCK (ähnlich MÖLLER, 1953) kommt nach zusammenfassender Darstellung der bis 1920 erschienenen Literatur zu dem Ergebnis, daß im *menschlichen* Harn Theobromin bis zu 20 % der aufgenommenen Dosis erscheint, daß als Hauptumwandlungsprodukt 7-Methylxanthin (Heteroxanthin) und in geringerer Menge 3-Methylxanthin neben weiteren nicht identifizierten Purinbasen zur Ausscheidung gelangt. Nach CORNISH u. CHRISTMAN (1957) gelangen 11—12 % Theobromin, als Stoffwechselprodukt 7-Methylxanthin (28—30 %), weiterhin 3-Methylxanthin

\* Auch an dieser Stelle sei der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung gedankt.

(14—21 %) sowie 7-Methylharnsäure (3—4 %) zur Ausscheidung<sup>1</sup>. Bei Tieren wurden unterschiedliche Ausscheidungsquoten gefunden (FRÄNKEL, 1919; BOCK, 1920). Über die Ausscheidungsdauer und den Konzentrationsabfall im menschlichen Harn konnten wir keine Angaben finden.

Während der Nachweis von Theobromin und Coffein in Kakao-präparationen verhältnismäßig einfach ist, bereitet er bei der Untersuchung biologischen Materials größere Schwierigkeiten. Stehen kleine Mengen, z.B. 1—2 g Schokolade o.ä. zur Verfügung, so ist eine wäßrige Aufschwemmung in saurem Milieu zu empfehlen, diese fettfrei zu

filtrieren und mit Chloroform zu extrahieren. Im Extrakt-rückstand kann der Nachweis nach der noch zu beschreibenden papierchromatographisch-spektrophotometrischen Methode erfolgen, die Gamma-Mengen von Xanthinderivaten zu erfassen und zu trennen gestattet.

Zum Nachweis von Theobromin und seinen Metaboliten im Harn wurden größere Untersuchungsreihen durchgeführt (HEUNISCH, 1965), wobei die einzelnen Unter-

suchungsverfahren (unter anderem nach KRÜGER u. SCHMIDT, 1901; GÜNZBURG, 1922; SCHACK-WAXLER, 1949; ATALA, 1959; KREMSBRÜCKER, 1959; CORNISH u. CHRISTMAN, 1957) kritisch gewürdigt worden sind.

Als brauchbar wurden die Extraktion des Harnes in saurem Milieu, papierchromatographische Entwicklung der Extraktrückstände mit dem Laufmittelgemisch nach JATZKEWITZ (1953) und mehrfache Erkennungsreaktionen gefunden: Ortung der Substanzflecken durch ihre Absorption im ultravioletten Bereich, Besprühen mit dem Reagens nach HAUCK sowie spektrophotometrische Messung der Eluate. In Vorversuchen war abgeklärt worden, daß im Harn von Versuchspersonen, die 2 Tage lang coffein- und theobrominfrei ernährt wurden, bei dieser Methode keine Substanzen zu finden waren, die den Nachweis stören könnten. Als besonders nützlich erwies sich die kombinierte Anwendung von MUNIERS Reagens und Silbernitrat, die von HAUCK (1962) für den Nachweis von Coffein angegeben worden ist. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß nicht nur Coffein in Mengen von 2 Gamma/Fleck, sondern auch Theobromin (2 Gamma/Fleck) sowie Theophyllin 1,7-Di-

<sup>1</sup> Die reine Harnsäure ist nicht vermehrt (FLASCHENTRÄGER-LEHNAETZ, 2/1 b).

methylxanthin (Paraxanthin) und 7-Methylxanthin (1 Gamma) nachgewiesen werden konnten. 1-Methylxanthin und 3-Methylxanthin sprachen mit 2 Gamma/Fleck nicht an<sup>2</sup>.

Mit dem gleichen Reagens sind die genannten Substanzen auch auf Dünnschichtchromatogrammen sehr empfindlich nachweisbar. Entwicklung entsprechend den Angaben von GÄNSHIRT (1962).

Tabelle 2.  $R_f$ -Werte der untersuchten Xanthinderivate

	Laufmittelgemische										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Theobromin . . . .	0,60	0,47	0,27	0,42		0,33	0,25	0,39	0,29	0,73	0,58
Theophyllin . . . .	0,70	0,64	0,22	0,52		0,49	0,36	0,53	0,27	0,80	0,64
Coffein . . . . .		0,71	0,65			0,65	0,73	0,60	0,54	0,80	0,74
1,7-Dimethylxanthin								0,46	0,16		
7-Methylxanthin . .	0,41	0,33			0,06			0,26	0,06	0,65	0,44
3-Methylxanthin . .	0,48	0,32	0,13	0,29				0,30	0,16	0,66	0,44
1-Methylxanthin . .	0,55	0,47			0,07			0,21	0,08		0,49
7-Methylharnsäure .								0,23	0,08	0,44	0,35

I—IX = aufsteigende, X und XI = absteigende Verfahren, VIII und IX = eigene Ergebnisse. Laufmittelgemische: I = Butanol:Wasser:Essigsäure (4:1:1) (nach CORNISH u. CHRISTMAN, 1957); II = Butanol:Ameisensäure:Wasser (77:10:13) (nach BERGMANN u. DIKSTEIN); III = Butanol: Wasser (86:14) + 5 Vol. Ammoniak (D 0,88) (nach BERGMANN u. DIKSTEIN); IV = Butanol:Wasser (86:14) (nach BERGMANN u. DIKSTEIN); V = Butanol:Ammoniak (1%ig) (6:1) (nach BERGMANN u. DIKSTEIN); VI = Butanol:konz. Salzsäure (90:10), ges. mit Wasser (nach LEDERER u. LEDERER, 1953); VII = Butanol:konz. Ammoniak:Wasser (100:2:16) (nach LEDERER u. LEDERER, 1953); VIII = n-Butanol : 15% Ameisensäure : Wasser (12:1:7) (nach JATZKEWITZ, 1953); IX = n-Butanol ges. mit 5 n Ammoniak (nach ALGERI u. WALKER, 1952); X = Äthanol:Pyridin:Wasser (67:20:13) (nach BERGMANN u. DIKSTEIN); XI = Äthanol:Essigsäure:Wasser (81:5:14) (nach BERGMANN u. DIKSTEIN). Die angegebenen  $R_f$ -Werte stellen lediglich relative Werte dar, weil die absoluten Zahlen mit Temperatur und Abstand der Lösung von der Startlinie variieren.

Bei den Versuchen, die einzelnen Xanthine aus wäßrigen Lösungen zu extrahieren, traten wegen der geringen Löslichkeit in organischen Solventien große Schwierigkeiten auf (100 ml Chloroform lösen bei 20° C 0,025 g Theobromin, BEILSTEIN, 26, 457), die Monomethylxanthine erwiesen sich als noch schlechter löslich. Dementsprechend waren die Ausbeuten bei Versuchen mit wäßrigen Lösungen gering. Überraschend traten jedoch in Harnextrakten nach Aufnahme von Theobromin Substanzflecken auf, von denen einer als 7-Methylxanthin angesprochen wurde. Offenbar war die Extrahierbarkeit dieser Substanz durch eine besondere Bindungsform bedingt. Da dieses Phänomen

<sup>2</sup> Wir danken der Fa. Böhringer für die Überlassung äußerst schwer zu beschaffender Xanthinderivate.

(der besseren Extrahierbarkeit von Xanthinderivaten aus Harnen als aus wäßrigen Lösungen) in zahlreichen Versuchen beobachtet wurde, ist an eine komplexe Bindung der Xanthinderivate zu denken, die ihre Harnfähigkeit einerseits und ihre Extrahierbarkeit andererseits verbessert. Bekannt sind Anlagerungsverbindungen von Coffein, Theobromin und Theophyllin, die eine gute Löslichkeit in wäßrigem Milieu haben. NISHIZAWA u. EIK-NES (1963) machten die Beobachtung, daß Coffein im Harn teilweise an Steroide gebunden auftrat. Zur Aufklärung anderer möglicher Ausscheidungsformen von Xanthinderivaten sind weitere Untersuchungen wünschenswert.

Tabelle 2 zeigt die  $R_f$ -Werte mehrerer Xanthinderivate in verschiedenen Laufmittelgemischen.

#### Untersuchungstechnik

20 ml Harn werden bei pH 2 mit 40 ml Chloroform extrahiert und der auf dem Wasserbad gewonnene Extrakttrückstand wird quantitativ in Methanol aufgenommen und auf vier Startflecken eines Papiere Schleicher & Schüll Nr. 2043 b Mgl. 20 × 40 cm aufgetragen. Nach etwa 12stündiger aufsteigender Entwicklung in dem Gemisch n-Butanol: 15% Ameisensäure: Wasser, 12:1:7 (nach JATZKEWITZ, 1953) und Trocknung erfolgt Sichtbarmachung im ultravioletten Licht (gefilterte Quarzlampe, 254 nm), wobei sich die Absorptionen als nahezu runde Flecken zeigen. Anschließend wird eine Bahn nach HAUCK (1962) behandelt: Zunächst leichtes Besprühen mit Munier-Macheboeuf-Reagens, nach dem Trocknen Besprühung mit 1% Silbernitrat in 5%iger Schwefelsäure. Bei dem zuerst genannten Reagens zeigen sich keine Reaktionen, während durch das Nachsprühen allmählich eine lachsrote Färbung bei Coffein, Theobromin und 7-Methylxanthin in hell- bis schmutzig-brauner Umgebung auftritt. 1-Methylxanthin spricht nicht an<sup>3</sup>.

$R_f$ -Werte und Reaktionen der einzelnen Substanzen siehe Tabelle 3.

Tabelle 3.  $R_f$ -Werte der untersuchten Xanthinderivate im Laufmittelgemisch nach JATZKEWITZ, UV-Absorption und Farbreaktion mit dem Reagens nach HAUCK

Substanz	$R_f$ -Wert	UV-Licht	Reagens nach HAUCK
Coffein . . . . .	0,59—0,62	A	lachsrot
Theobromin . . . .	0,37—0,39	A	lachsrot
Theophyllin . . . .	0,53	A	lachsrot
1,7-Dimethylxanthin	0,46	A	lachsrot
1-Methylxanthin . .	0,21	A	negativ <sup>3</sup>
7-Methylxanthin . .	0,26	A	lachsrot
3-Methylxanthin . .	0,30	A	negativ <sup>3</sup>

Zur quantitativen Bestimmung werden bei den entsprechenden  $R_f$ -Werten auf einer unbehandelten Startbahn die Substanzflecken 30 min mit 0,5 n  $H_2SO_4$  bei Zimmertemperatur eluiert und die Eluate mit einem selbst registrierenden Spektralphotometer (Beckmann DK-2) zwischen 220 und 360 nm gegen das unter gleichen

<sup>3</sup> In größeren Mengen (> 5γ) lachsrot.

Bedingungen gewonnene Eluat eines auf gleicher Höhe des Papiers liegenden „Leerfleckes“ gemessen. Danach wird die Meßlösung auf pH 13 gebracht und erneut spektrophotometriert. In der Tabelle 4 sind die Maxima und Minima der Substanzen nach Papierchromatographie bei verschiedenen pH-Werten aufgezeigt. Die Mengenangabe von Theobromin oder seinen Metaboliten erfolgt durch Ablesung der Extinktionen an einer unter gleichen Bedingungen mit bekannten Substanzmengen hergestellten Eichkurve.

BRADFORD u. BRACKETT (1958) haben die Extinktionen von Coffein, Theobromin und Theophyllin wie folgt gemessen:

Coffein in 50%igem Alkohol; Absorptionsmaximum bei 272 nm, Extinktion für 1 Gamma/ml: 0,05; Theobromin und Theophyllin, gemessen in Boratpuffer von pH 9,4, Maximum bei Theobromin 273 nm, Extinktion 0,055; Theophyllin 274 nm, Extinktion 0,064.

Aus Tabelle 4 ergibt sich, daß im sauren Milieu keine wesentlichen Unterschiede der Absorptionskurven bei den einzelnen Substanzen vorliegen. Auch im alkalischen

Tabelle 4. *Absorptionsmaxima und -minima bei mehreren Xanthinderivaten nach Papierchromatographie und Elution bzw. nach Silbersalzfällung*

Substanz	Saures Milieu		Alkalisches Milieu	
	max	min	max	min
Coffein . . . . .	229 nm: anged. 270 nm	244 nm	270,5 nm	246 nm
	270 nm	243 nm	272 nm	251 nm
	232 nm: anged. 268 nm	242 nm	272,5 nm	246 nm
1-Methylxanthin . . . . .	265 nm	237 nm	279 nm	255 nm
1-Methylxanthin nach AgNO <sub>3</sub> -Präcip.	280 nm	254 nm	291 nm	256 nm
7-Methylxanthin . . . . .	266 nm	240 nm	286 nm	255 nm
7-Methylxanthin nach AgNO <sub>3</sub> -Präcip.	272 nm	252 nm	286 nm	271 nm
1,7-Dimethylxanthin . . . . .	265 nm	241 nm	290 nm	257 nm
3-Methylxanthin . . . . .	269 nm	244 nm	276 nm	249 nm

*Aus Harn:*

Coffein . . . . .	270 nm	244 nm	270 nm	246 nm
Theobromin ger. Schwankungen . .	268 nm	243 nm	272 nm	251 nm
Theophyllin . . . . .	268 nm	244 nm	273 nm	251 nm
1-Methylxanthin <sup>2</sup> . . . . .	283 nm	256 nm	—	—
7-Methylxanthin <sup>1</sup> . . . . .	272 nm	252 nm	286 nm	271 nm

<sup>1</sup> = 100 Gamma Methylxanthin zu 4 ml Harn zugesetzt, Silbersalzfällung nach CORNISH und CHRISTMAN bei pH 1. Direkte Spektrophotometrie der gewonnenen Lösung (1 ml).

<sup>2</sup> Desgl., nur Messung im sauren Milieu brauchbar.

Milieu sind bei Coffein und den Dimethylxanthinen die Absorptionsgipfel etwa gleich, während bei den Monomethylxanthinen eine Verschiebung zum langwelligen Bereich zu beobachten ist. Die Gruppe der Monomethylxanthine kann deshalb durch die spektrophotometrische Messung von Di- und Trimethylxanthin unterschieden werden.

RAUEN, 1964 beschreibt auf S. 624 für Harnsäure, 1-Methylharnsäure, 3-Methylharnsäure, 7-Methylharnsäure, 1,3- und 3,7- sowie 1,3,7-Di- und Trimethylharnsäure Maxima der Absorption bei saurer Reaktion (pH 2,5) um 283—290 nm. Daher kann eine Verwechslung mit den Xanthinen nicht vorkommen, da diese im sauren Bereich alle ein Maximum unter 272 nm haben.

#### *Ergebnisse der Ausscheidungsversuche*

Zwei Versuchspersonen nahmen je 300 mg Theobromin in Form eines mit Traubenzucker gesüßten Pulvers. Von der ersten Versuchsperson (männlich, 23 Jahre, 66 kg) wurden besondere Wirkungen nicht ver-spürt. Die zweite Versuchsperson (männlich, 24 Jahre, 62 kg) hatte kurze Zeit später geringe Herzbeschwerden. Die Diurese war bei der ersten Versuchsperson deutlich gesteigert, bei der zweiten auffallend gering.

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der beiden Ausscheidungsversuche aufgezeichnet. Nicht nur in der Wirkung und in der Größe der Harnmenge, sondern auch in der Konzentration der einzelnen Harnproben an Theobromin und Abbauprodukten traten bei den Versuchspersonen deutliche Unterschiede auf. Die Harnausscheidung war nach 24 Std für die unveränderte Substanz noch nicht abgeschlossen. Bis zu diesem Zeitpunkt hatte eine Person 11,45 mg (= 4 %) ausgeschieden, die zweite nach 20 Std bereits 24,07 mg (etwa 8 %). Bei dieser zweiten Versuchsperson waren die Monomethylxanthinmengen wesentlich größer als bei der ersten.

Tabelle 5. *Ausscheidung nach 300 mg Theobromin per os*

Zeit nach Aufnahme Std	Harnmenge (ml)		Theobromin (mg-%)		Monomethylxanthine (mg-%)	
	I	II	I	II	I	II
1	150	30	0,60	1,60	0,19	3,35
2	350	30	1,80	2,72	0,14	0,74
4		80		1,60		0,26
8	250	600	1,00	3,10	—	0,70
20		120		2,72		0,32
24	250		0,70		0,08	

I = Erste Versuchsperson; Gesamtmenge Theobromin in den untersuchten Harnproben 11,45 mg = ca. 4 % der Ausgangsmenge; Gesamtmenge Monomethylxanthine 0,98 mg.

II = Zweite Versuchsperson; Gesamtmenge Theobromin in den untersuchten Harnproben 24,07 mg = etwa 8 %; Gesamtmenge Monomethylxanthine 6,17 mg.

#### *Diskussion*

Theobromin wird im Körper weitgehend abgebaut, so daß im Harn nur ein kleiner Prozentsatz nachgewiesen werden kann. Nach unseren Erfahrungen liegt er nach einer Dosis von 0,3 g unter 10 %, während von

BOCK (1920) bis zu 20% angegeben worden sind. CORNISH u. CHRISTMAN (1957) haben nach der Aufnahme von 1 g Theobromin 11—12% gefunden. 7-Methylxanthin als Ausscheidungsprodukt von Theobromin wurde in wesentlich kleinerer Menge als die Muttersubstanz im Harn gefunden. CORNISH u. CHRISTMAN haben 28—30% angegeben. Ob der Unterschied zwischen der von diesen Autoren und der von uns gefundenen Ausscheidungsquote mit der Methodik oder mit individuellen Schwankungen des Theobrominabbaues von Mensch zu Mensch und je nach Dosis zusammenhängt, muß zunächst offengelassen werden. Die Abbauvorgänge scheinen beim Menschen quantitativ recht verschieden zu sein. Es leuchtet ein, daß größere Mengen weniger vollständig abgebaut werden können.

Aus unseren Ergebnissen läßt sich ableiten, daß die Ausscheidung einer Einzeldosis von 300 mg nach 24 Std noch nicht abgeschlossen ist. Der Höhepunkt der Ausscheidung wurde einmal nach 2 Std gefunden. Bei der zweiten Versuchsperson wurde sogar ein weiterer Ausscheidungsgipfel nach 8 Std festgestellt. Eine Halbwertszeit des Konzentrationsabfalles für Theobromin im Harn läßt sich aus unseren Zahlen nicht mit genügender Genauigkeit ermitteln. Sie dürfte viele Stunden betragen.

### Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird über den Stoffwechselabbau von Theobromin beim Menschen und über die Ausscheidung im menschlichen Harn berichtet. Nach Aufnahme einer Einzeldosis von 300 mg fanden wir bei einer Versuchsperson das Ausscheidungsmaximum (1,8 mg-%) 2 Std später, jedoch erst nach 8 Std (3,1 mg-%) bei der zweiten Versuchsperson. Innerhalb von 24 Std wurden etwa 10% der aufgenommenen Dosis ausgeschieden, die Gesamtausscheidung war damit aber noch nicht abgeschlossen. Als Stoffwechselprodukt trat 7-Methylxanthin in geringeren Mengen als Theobromin auf. Mit Hilfe einer kombinierten papierchromatographisch-ultraviolettspektrophotometrischen Methode konnten wenige Gamma Theobromin, Coffein, Theophyllin und andere Xanthinderivate nachgewiesen werden. Die Methode hat sich auch beim quantitativen Nachweis von Theobromin und Coffein in Schokoladepräparationen bewährt, die als Giftträger verdächtig waren.

### Summary

The paper dealed with the metabolic degradation of theobromine and its excretion in the urine of man. After ingestion of a single dose of 300 mg we found the maximum of excretion two hours later (1.8 mg-%) in the first test person, but eight hours later in the second (3.1 mg-%). In 24 hours 10% of the ingested amount were excreted, but excretion not yet was finished. 7-Methylxanthine was a metabolite occurring in

minor amounts as theobromine. A combined paper chromatographic and ultraviolet spectrometric method was able to detect micrograms of theobromine, caffeine, theophylline and other xanthine derivatives. The method was successful applied to the estimation of theobromine and caffeine in preparations of chocolate suspected as poison-carriers.

### Literatur

- ALGERI, E. J., and J. T. WALKER: Paper chromatography for identification of the common barbiturates. Amer. J. clin. Path. **22**, 37 (1952).
- ATALA, A. A.: Extraction and chromatographic separation of strychnin, caffeine, theobromine and other alkaloids in the saliva of horse. An. Fac. Quim. Farm., Univ. Chile **11**, 71 (1959).
- BEILSTEIN, F.: Handbuch der organischen Chemie, 4. Aufl., Bd. 26, S. 457, Systemnummer 3794—4187. Berlin: Springer 1937.
- BERGMANN, F., and SH. DIKSTEIN: New methods of purification and separation of purines. In: Methods of biochemical analysis, vol. IV, edit. by D. GLICK. Interscience Publishers: New York and London 1958.
- BOCK, J.: Die Purinderivate. In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, herausgeg. von A. HEFFTER, Bd. II/1, S. 508ff. Berlin: Springer 1920.
- BRADFORD, L. W., and J. W. BRACKETT: Systematic procedure for the identification of dangerous drugs, poisons and narcotics by ultraviolet spectrophotometry. Mikrochim. Acta Nr 3, 353 (1958).
- BUCHANAN, O. H., A. A. CHRISTMAN, and W. D. BLOCK: The metabolism of the methylated purines. J. biol. Chem. **157**, 189 (1945).
- BÜCHI, J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der synthetischen Arzneimittel. Basel u. Stuttgart: Birkhäuser 1963.
- CORNISH, H. H., and A. A. CHRISTMAN: Metabolism of theobromine, theophylline and caffeine. J. biol. Chem. **228**, 315 (1957).
- FLASCHENTRÄGER, B., u. E. LEHNARTZ: Physiologische Chemie, Bd. II, Teil 1b, Der Stoffwechsel. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- FRÄNKEL, S.: Die Arzneimittelsynthese auf Grundlage der Beziehungen zwischen chemischem Aufbau und Wirkung. Berlin: Springer 1919.
- GÄNSHIRT, H.: Arzneimittel. In: Dünnsschicht-Chromatographie, herausgeg. von E. STAHL, S. 315 ff. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962.
- GESENIUS, H.: Ausscheidung und Nachweis körperfremder Substanzen im Harn. In: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, hrsg. von E. ABDERHALDEN, Bd. IV/5, 1. Hälfte, S. 835 ff. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1931.
- GÜNZBURG, L.: Über Theobrominausscheidung und Theobromindiurese. Biochem. Z. **129**, 549 (1922). Zit. GESENIUS.
- HARPUDER, K., u. A. SCHITTENHELM: Qualitativer und quantitativer Nachweis der Produkte des Purinstoffwechsels im Harn. In: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, hrsg. von E. ABDERHALDEN, Bd. IV/5, 1. Hälfte, S. 561 ff. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1931.
- HAUCK, G.: Einfacher papierchromatographischer Nachweis von Coffein. Vortrag anlässlich der 41. Tagg der Dtsch. Ges. f. gerichtl. u. soziale Medizin, Münster, 1962. Ref. Arch. Kriminol. **131**, 109 (1963).
- HAUCK, G.: Zum papierchromatographischen Nachweis von Xanthinen. Dtsch. Apoth.-Ztg. **105**, 209 (1965).
- HEUNISCH, E.: Untersuchungen zum Nachweis von Theobromin und seinen Metaboliten im Harn. Med. Diss. Erlangen 1965.

- JATZKEWITZ, H.: Ein klinisches Verfahren zur Bestimmung von basischen Suchtmitteln im Harn. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **292**, 94 (1953).
- KLEINER, I. S., and J. M. Orten: Biochemistry. St. Louis: C. V. Mosby Co. 1962.
- KOBERT, R.: Lehrbuch der Intoxikationen, Bd. 2. Stuttgart: Ferdinand Enke 1906.
- KREMSBRÜCKER, H.: Identifizierungsmethoden einiger wasserlöslicher Derivate des Theophyllins bzw. Theobromins unter besonderer Berücksichtigung der Papierchromatographie. Sci. pharm. (Wien) **27**, 282 (1959).
- KRÜGER, M., u. J. SCHMIDT: Das Verhalten von Theobromin im Organismus des Menschen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **45**, 259 (1901). Zit. WILLIAMS.
- LEDERER, E., and M. LEDERER: Chromatography. New York: Elsevier Publ. 1953.
- MÖLLER, K. O.: Pharmakologie als theoretische Grundlage einer rationellen Pharmakotherapie. Basel: Benno Schwabe & Co 1953.
- NISHIZAWA, E. E., and K. B. EIK-NES: The presence of a possible caffeine-steroid complex in human urine. J. Chromatogr. **10**, 493 (1963).
- RAUEN, H. M.: Biochemisches Taschenbuch, 2. Aufl., Teil I. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964.
- SCHACK, J. A., and S. H. WAXLER: An ultraviolet spectrophotometric method for the determination of theophylline and theobromine in blood and tissues. J. Pharmacol. exp. Ther. **97**, 283 (1949).
- SCHMIDT, Gg., u. R. SCHOYERER: Zum Nachweis von Coffein und seinen Metaboliten im Harn. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **57**, 402 (1966).
- SOLLMAN, T.: A manual of pharmacology. Philadelphia and London: W. B. Saunders Co. 1949.
- WADSWORTH, R. W.: Analyst. **1920**, 133. Zit. Chem.-Ztg **44**, 289 (1920).
- WILLIAMS, R. T.: Detoxication mechanisms. London: Chapman & Hall Ltd. 1959.

Prof. Dr. med. Gg. SCHMIDT  
Institut für gerichtliche Medizin  
der Universität Tübingen  
74 Tübingen, Nägelestraße 5

E. HEUNISCH  
84 Regensburg, Weinzierlstraße 19