

Aus dem Zentrum der Rechtsmedizin
des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Institut für Forensische Toxikologie
(Leiter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. G. Kauert)

Nachweis von zentral wirksamen Arzneimitteln
im Kopfhhaar psychiatrischer Patienten
mittels LC-TOF MS

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereiches Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

vorgelegt von
Christiane Schröter
aus Halle/Saale

Frankfurt am Main, 2007

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. G. Kauert

2. Gutachter: Prof. Dr. med. K. Maurer

Datum der Disputation: 08.12.2008 in Frankfurt am Main

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Forensische Toxikologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. G. Kauert im Zeitraum von April 2005 bis Mai 2007 angefertigt.

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Gerold Kauert, Direktor des Institutes für Forensische Toxikologie Frankfurt, möchte ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und die stets freundliche Unterstützung danken.

Meiner Betreuerin Frau Dr. Stefanie Iwersen-Bergmann, Institut für Forensische Toxikologie Frankfurt, danke ich ganz besonders herzlich für die jederzeit fröhliche und immer wieder motivierende Zusammenarbeit, viele gute Ratschläge und fachliche Kritik.

Herrn PD. Dr. Stefan Tönnies und Herrn cand. rer. nat. Moritz Wagner, Institut für Forensische Toxikologie Frankfurt, gebührt mein Dank für die Einarbeitung am LC-TOF MS und geduldiges Erklären der Auswerte-Software.

Herrn W. Pogoda und allen anderen Mitarbeitern am Institut für Forensische Toxikologie Frankfurt danke ich sehr für die freundschaftliche Mitarbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. H. Bauer, Zentrum der Psychiatrie Frankfurt, Oberarzt der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie II, welcher den Antrag auf Studienzulassung durch die Ethikkommission mit bearbeitete und die Durchführung der klinischen Studie an Patientenhaaren durch Zusammenarbeit mit seinem Klinikbereich ermöglichte.

Für die regelmäßige Unterstützung beim Entnehmen von Haarproben an Patienten der geschlossenen psychiatrischen Stationen möchte ich Herrn Steffen Konz, Arzt am Zentrum für Psychiatrie, recht herzlich danken.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	11
1.1	Problemstellung.....	11
1.2	Ziele der Arbeit	12
1.3	Aufbau der Arbeit.....	14
2	Grundlagen	16
2.1	Struktur und Wachstum menschlicher Haaren	16
2.2	Inkorporation von Fremdsubstanzen in Haare.....	16
2.3	Aktuelle Möglichkeiten der forensischen Haaranalytik.....	19
2.4	Qualitätsstandards für spezielle Analyte bei forensisch- toxikologischen Untersuchungen.....	20
2.5	Charakterisierung der untersuchten Substanzen	21
2.5.1	Neuroleptika	21
2.5.1.1	Haloperidol	22
2.5.1.2	Benperidol	23
2.5.1.3	Risperidon	23
2.5.1.4	Chlorprothixen	24
2.5.1.5	Flupentixol	24
2.5.1.6	Olanzapin	25
2.5.1.7	Clozapin	25
2.5.1.8	Quetiapin	26
2.5.1.9	Levomepromazin	27
2.5.1.10	Perazin	27
2.5.1.11	Promethazin	28

2.5.1.12	Fluphenazin	28
2.5.1.13	Prothipendyl	29
2.5.2	Benzodiazepine	29
2.5.2.1	Flunitrazepam	29
2.5.2.2	Diazepam	30
2.5.2.3	Nordiazepam	31
2.5.2.4	Oxazepam	32
2.5.2.5	Temazepam	33
2.5.2.6	Bromazepam	33
2.5.2.7	Lorazepam	34
2.5.2.8	Midazolam	35
2.5.3	Antidepressiva	35
2.5.3.1	Fluoxetin	36
2.5.3.2	Paroxetin	36
2.5.3.3	Venlafaxin	37
2.5.3.4	Doxepin	37
2.5.3.5	Amitriptylin	38
2.5.3.6	Mirtazapin	39
2.5.4	Opioide	40
2.5.4.1	Tramadol	40
2.5.4.2	Morphin	40
2.5.4.3	Codein	42
2.5.4.4	Methadon	43
2.5.5	Sonstige.....	43

2.5.5.1	Zolpidem	44
2.5.5.2	Biperiden	44
2.5.5.3	Carbamazepin	45
2.5.5.4	Diphenhydramin	46
2.5.5.5	Doxylamin	47
2.5.6	Drogen.....	47
2.5.6.1	Heroin	47
2.5.6.2	Cocain	48
2.5.6.3	Amphetamin	49
2.5.6.4	Methamphetamin	50
2.5.6.5	MDMA	51
2.5.6.6	MDE	52
2.6	Interne Standards.....	53
2.7	Funktionsweise des Flugzeitmassenspektrometers (LC-TOF MS)..	53
3	Material	55
3.1	Verwendete Chemikalien.....	55
3.1.1	Reagenzien	55
3.1.2	Lösungsmittel	56
3.2	Humanes Untersuchungsmaterial	57
3.2.1	Leerhaare	57
3.2.2	Patientenhaare	57
3.3	Verwendete Geräte	57
3.3.1	Verbrauchsmaterial.....	57
3.3.2	Laborgeräte	58

4	Methoden.....	59
4.1	Verwendete Verfahren.....	59
4.1.1	Haarentnahme am Patienten.....	59
4.1.2	Analyse der Leerhaare	60
4.1.3	Ansetzen eines Substanzenmix.....	60
4.1.4	Herstellung von Standard-Lösungen	60
4.1.5	Haaraufarbeitung und methanolische Extraktion nach KAUERT und RÖHRICH (1997).....	61
4.1.6	Dotieren von Leerhaaren	62
4.1.7	Einstellungen am LC-TOF MS.....	63
4.1.8	Begutachtung der Qualität der Rohdaten	63
4.2	Vorversuch	64
4.3	Versuche	64
4.3.1	Vergleich underivatisierter und propionierter Haar- extrakte.....	64
4.3.1.1	Reinsubstanzen	65
4.3.1.2	Bestimmung des Arbeitsbereichs mittels Valistat für underivatisierte und propionierte Haar- extrakte	65
4.3.1.3	Bestimmung der Nachweisgrenze und Be- stimmungsgrenze mittels Valistat für underivati- sierte und propionierte Haarextrakte	65
4.3.2	Haarproben psychiatrischer Patienten.....	66
4.3.3	Einmaleinnahmen	66
4.3.4	Bestimmung der Retentionszeiten.....	67

4.3.5	Manuelle Identifizierung von Substanzen	67
4.3.6	MFE-Algorithmus	71
4.3.7	Quantifizierung im Analyst	72
4.3.8	Validierung mit Valistat nach GTFCh-Richtlinien	72
5	Ergebnisse	74
5.1	Extraktionsvergleich: Verdauung der Haare mit Proteinkinase versus Methanolextraktion unbehandelter Haare	74
5.2	Vergleich underivatisierter und derivatisierter Haarextrakte	74
5.2.1	Abdampfen der Haarextrakte ohne Zusatz	75
5.2.2	Abdampfen der Haarextrakte nach Zusatz von iso- propanolischer Salzsäure	75
5.2.3	Abdampfen der Haarextrakte nach Zusatz von Propion- säure und DMAP	78
5.2.4	Abdampfen der Haarextrakte nach Zusatz von Propion- säure, DMAP und anschließender Derivatisierung (Propionylierung) mit PSA	79
5.3	Identifizierung 51 verschiedener psychotroper Substanzen	80
5.4	Arbeitsbereich	84
5.5	Experimentelle Ermittlung der Nachweisgrenze	87
5.6	Bestimmungs- und Nachweisgrenzen ermittelt mit Valistat	89
5.7	Patientenhaare	92
5.7.1	Einnahmen	92
5.7.2	Nachweis zentralwirksamer Substanzen in Patienten- haaren	95

5.7.3	Zusätzliche Befunde	99
5.7.4	Quantifizierung der nachgewiesenen Substanzen in Patientenhaaren	102
5.7.5	Häufigkeiten verschiedener Substanznachweise	108
5.7.6	Einmalige Aufnahme zentral wirksamer Arzneimittel	115
5.8	Methodenvergleich der Auswerteprogramme	116
5.8.1	Handintegration im Analyst	116
5.8.1.1	Abschätzung des Arbeitsbereichs Haarextrakte underivatisiert	116
5.8.1.2	Abschätzung des Arbeitsbereichs Haarextrakte derivatisiert	116
5.8.2	MFE	117
5.8.2.1	Arbeitsbereich underivatisiert	117
5.8.2.2	Arbeitsbereich derivatisiert	119
5.8.2.3	Nachweisgrenzen MFE	119
5.8.2.4	Haarproben Psychiatrie	121
6	Diskussion	128
6.1	Inkorporation von Substanzen ins Haar	129
6.2	LC-TOF MS als Messverfahren	131
6.3	Haaraufarbeitung	133
6.4	Derivatisierung im Vergleich zum underivatisierten Extrakt	134
6.5	Vergleich manueller Auswertung mit Analyst zu der automatischen Auswertung mit MFE	135
6.6	Methodenvalidierung	137
6.7	Haarbefunde	139

7	Zusammenfassung	143
8	Summary.....	147
9	Literaturverzeichnis	151

Lebenslauf

Schriftliche Erklärung

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Manuelle Identifikation underivatisierter Substanzen von 0,02 bis 0,75ng/mg	76
Tabelle 2:	Linearität über den gesamten Messbereich mit Analyst ohne Derivatisierung	78
Tabelle 3:	Nachweis im propionylierten Extrakt als unveränderte Reinsubstanz oder derivatisiert	79
Tabelle 4:	Identifikationsdaten der Substanzen	80
Tabelle 5:	Identifikationsdaten der Internen Standards	82
Tabelle 6:	Identifikationsdaten der propionylierten Substanzen.....	82
Tabelle 7:	Identifikationsdaten der propionylierten Internen Standards.....	83
Tabelle 8:	Arbeitsbereich underivatisierter Substanzen.....	84
Tabelle 9:	Arbeitsbereich propionylierter Substanzen	86
Tabelle 10:	Experimentelle Nachweisgrenzen in ng/mg	88
Tabelle 11:	Bestimmungs- und Nachweisgrenzen in ng/mg Haar	90
Tabelle 12:	Einnahmetage, Haarfarbe und Medikation	92
Tabelle 13:	Medikation und Nachweis der Medikation in den Haaren.....	96
Tabelle 14:	Quantifizierung	103
Tabelle 15:	Zusammenhang eingenommener Substanzmengen mit manueller Identifizierung und quantitativer Auswertung	108
Tabelle 16:	Befunde nach einmaliger Einnahme	116
Tabelle 17:	Identifizierung und Überprüfung der Arbeitsbereiche auf Linearität mit MFE	117
Tabelle 18:	Gegenüberstellung der mit MFE, Valistat und experimentell ermittelten Nachweisgrenzen.....	119
Tabelle 19:	Befunde in Patientenhaaren mit MFE	122

Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
7-Aminofluni	7-Aminoflunitrazepam
BE	Benzoylecgonin
Btm	Betäubungsmittel
DAD	Dioden Array Detector
DMAP	Dimethylaminopyridin
DNA	DesoxyRibonucleic Acid
DTE	Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESI	Elektrospray-Ionisation
FA	Formic Acid (Ameisensäure)
GC	Gas Chromatographie
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie
HP	perfluoriertes Phosphazin
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Isoprop. HCl	Isopropanolische Salzsäure
ISTD	Interner Standard
K	Kalium
k.A.	keine Angabe
LC-TOF MS	Liquid Chromatography Time Of Flight Mass Spectrometry
6-MAM	6-Monoacetylmorphin
MDA	3,4-Methylendioxyamphetamin
MDE	3,4-Methyendioxy-N-ethylamphetamin
MDMA	3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin
MFE	Molecular Feature Extractor
Na	Natrium
ppm	parts per million
PSA	Propionsäureanhydrid
RSD	Relative Standard Deviation

SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (Natriumdodecylsulfat)
SOP	Standard Operating Procedure
Tab.	Tabelle
THC	Tetrahydrocannabinol
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, auch Trometamol (INN)

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Der Nachweis von Medikamenten und illegalen Betäubungsmitteln in Haaren ist für viele forensische und klinische Fragestellungen relevant, z.B. um chronischen Abusus oder Abstinenz nachzuweisen, als Therapiekontrolle oder auch zum Beweis einer einmaligen Einnahme bestimmter Mittel. Zur Beurteilung einer aktuell vorliegenden Beeinflussung oder einer kürzlich erfolgten Substanzaufnahme eignen sich am besten Körperflüssigkeiten wie Blut und Urin. Wurde die zeitnahe Gewinnung der genannten Körperflüssigkeiten versäumt, ist ein Nachweis der aufgenommenen Substanzen nicht mehr möglich, da innerhalb weniger Stunden bis Tage Fremdstoffe von Leber oder Niere metabolisiert und eliminiert werden. In dieser Situation können die Vorteile der Haaranalytik genutzt werden. Das Haar als „totes Material“ ohne Stoffwechsel ermöglicht den Nachweis von Medikamenten und Drogen noch lange nach der Einnahme (BAUMGARTNER et al. 1989). Unter Kalkulation des Haarwachstums kann auch ein Monate bis Jahre zurückliegender Konsum nachgewiesen werden. Der mögliche Untersuchungszeitraum ist hierbei von der Haarlänge abhängig.

Die etablierten und standardisierten Methoden der Haaranalytik erfassen in der Regel nur ein begrenztes Spektrum an Substanzen und der Nachweis gelingt häufig nur nach regelmäßiger und hoch dosierter Einnahme. Einmaliger Missbrauch oder Zuführung im Rahmen einer Straftat können dadurch unentdeckt bleiben.

Die Haaranalyse hat sich derzeit insbesondere zum Nachweis von Betäubungsmitteln etabliert, z.B. bei Haaranalysen im Rahmen von Fahreignungsbegutachtungen oder nach fraglicher Beibringung von K.O.-Mitteln. Vor allem in den letzten Jahren wurden zunehmend Straftaten wie Raub oder Vergewaltigung mit Betäubung der Opfer angezeigt (MADEA et al. 2006, KAUERT et al. 2006), wobei es sich meist um sedierende Substanzen wie Benzodiazepine, Neuroleptika, Antihistaminika, Hypnotika (z.B. Zolpidem) oder Anästhetika (Gamma-Hydroxy-Butyrate, Ketamin) handelt. In Frage kommen aber auch illegale Drogen (z.B. Cannabis, LSD und Amphetamine) oder Alkohol. Bei derartigen Fragestellungen werden in der Regel verhältnismäßig zeitintensive Sonderaufarbeitungen durchgeführt und insbesondere bei Negativbefunden stellt sich die Frage, was dieses Ergebnis eigentlich

aussagt. Eine niedrige Konzentration, wie sie nach ein- oder mehrmaliger Aufnahme in den Haaren erreicht wird, konnte vielleicht methodisch überhaupt nicht erfasst werden. Eine der aktuell beforschten Nachweistechiken zur Lösung dieses Problems ist die Kombination aus Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Flugzeitmassenspektrometrie (LC-TOF MS), welche Substanzen sehr empfindlich nachweisen soll und auch zur Detektion neuer Substanzen mit bekannter Strukturformel geeignet ist (MEBS et al. 2007).

1.2 Ziele der Arbeit

Im Rahmen dieser Arbeit soll die Eignung der Methode LC-TOF MS für den empfindlichen Nachweis von insgesamt 51 zentral wirksamen Arzneimitteln bzw. Betäubungsmitteln in Kopfhair überprüft werden. Das Spektrum der untersuchten Substanzen umfasst die am häufigsten in der Psychiatrie verordneten Substanzen, d.h. Neuroleptika, Antidepressiva, Benzodiazepine, Antihistaminika, Antiepileptika, Antiparkinsonmittel und weitere Sedativa. Es werden außerdem standardmäßig gescreente illegale Drogen und ihre Abbauprodukte in die Untersuchungen einbezogen. Die Sensitivität und Spezifität der Nachweismethode soll durch die Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen gezeigt werden. Für 14 der untersuchten illegalen Betäubungsmittel/Metabolite liegen Qualitätsstandards nach den Richtlinien der GTFCh und DIN EN ISO/IEC 17025 bezüglich der Nachweisempfindlichkeit forensischer Bestätigungsmethoden in der Haaranalytik (siehe 2.4) vor. Es soll die Sensitivität der Methodik an diesen Standards gemessen werden, bzw. für Substanzen ohne Qualitätsstandards ein Vergleich mit den Ergebnissen vorangegangener Publikationen erfolgen. Anhand des Abgleichs der Verordnungen mit haaranalytisch identifizierter Substanzen soll untersucht werden, ob sich die Medikamente auch in vivo in ausreichend hohen Konzentrationen ins Hair einlagern. Durch quantitative Auswertung der Haarbefunde sollen mögliche Korrelationen zwischen eingenommener Medikamentendosis und bestimmter Haarkonzentration ermittelt werden. Aufgrund vieler Variablen im Vorgang der Einlagerung von Fremdsubstanzen aus dem Blut ins Hair ist jedoch bestenfalls eine grobe Korrelation zu erwarten. Die Inkorporation von Substanzen in die Haarmatrix hängt vom Blutspiegel, der chemischen Struktur und der individuellen Hairbeschaffenheit ab. Hierbei stellen laut Studien von NAKAHARA et al. (1995) und PRAGST et al. (1997) Lipophilie, Basizität und Melaninaffinität die wichtigsten Einflussfaktoren dar. In der einschlägigen Literatur wurde

wiederholt eine signifikante Dosis-Konzentrations-Beziehung bei Haaranalysen postuliert (Amphetamin: COOPER et al. 2000, Carbamazepin: TSATSAKIS et al. 1997, WILLIAMS et al. 1997 und 2001, MIECZKOWSKI et al. 2001, Cocain: FORMAN et al. 1992, KAUERT et al. 1996, PÉPIN et al. 1997, ELMAN et al. 2000, Clozapin + Chlorpromazin: SHEN et al. 2002, Haloperidol: MATSUNO et al. 1990, NAKANO et al. 1994, Heroin: BAUMGARTNER et al. 1979, CONE et al. 1990, NAKAHARA et al. 1992, GYGI et al. 1995, KAUERT et al. 1996, ROLLINS et al. 1996 und PÉPIN et al. 1997, Methamphetamin: NAKAHARA et al. 1995, Phenobarbital: GOULLÉ et al. 1995). Oft wurde jedoch auch ein unregelmäßiger Einbau von Fremdsubstanzen ins Haar festgestellt (KINTZ et al. 1995, HENDERSON et al. 1996, GOULLÉ et al. 1997, ROTHE et al. 1997, HENDERSON et al. 1998, KINTZ et al. 1998, IWERSEN-BERGMANN et al. 2000, CIRIMELE et al. 2000, GIROD et al. 2001 und WEINMANN et al. 2002). Die vorliegende Arbeit soll das Wissen über die Korrelation von Einnahmedosis und Haarkonzentration um Ergebnisse zu einigen seltener verordneten und haaranalytisch wenig erforschten Substanzen erweitern. In Fallstudien von MC CLEAN et al. (1999), KRONSTRAND et al. (2001), NEGRUSZ et al. (2001), SHEN et al. (2002), CHEZE et al. (2004), KINTZ et al. (2005) etc. wurden zentral wirksame Arzneimittel auch nach einmaliger Einnahme (psychiatrische Akuttherapien, Straftaten oder zu Studienzwecken) im Haar nachgewiesen. Es soll geprüft werden, ob diese Leistung auch mittels LC-TOF MS zu erbringen ist, was bisher nur in Einzelfällen untersucht wurde (KINTZ et al. 2004, TÖNNES et al. 2006).

Außerdem ist es Ziel der Arbeit, Extraktions- und Detektionsbedingungen im Hinblick auf die Fragestellung zu überprüfen und gegebenenfalls zu optimieren. Dazu soll die Haaraufarbeitungsmethode der enzymatischen Lyse der Haarmatrix als Alternative zur methanolischen Extraktion getestet werden. Zudem wird eine Gegenüberstellung der Nachweisbarkeit nach Derivatisierung mit Ergebnissen ohne Derivatisierung angestrebt und es sollen mögliche Auswertungsprogramme direkt miteinander verglichen und diskutiert werden.

Die vorliegende Dissertation zielt darauf ab, folgende konkrete Fragen aus der forensischen Laborpraxis zu beantworten:

- 1) Lässt sich die mittlerweile universell eingesetzte Detektionsmethode LC-TOF MS mit der etablierten Methanolextraktionsmethode zu einem einfachen, sensitiven, viele Substanzen umfassenden und schnell durchführbaren Haarscreeningverfahren kombinieren?
- 2) Werden psychotrope Arzneimittel nach therapeutischer Aufnahme damit erfasst?
- 3) Führen einmalige Einnahmen von Psychopharmaka zu positiven Befunden in der Haaranalyse mit LC-TOF MS?

1.3 Aufbau der Arbeit

Zur Beantwortung der in den letzten Punkten genannten Fragestellungen wurden 51 Substanzen in Haaren mittels LC-TOF MS untersucht und eine klinische Studie an 40 Patienten durchgeführt. Es sind dabei die standardmäßig zu erfassenden Betäubungsmittel enthalten, wie auch Schlafmittel, Antidepressiva und Neuroleptika. Folgende Substanzen wurden ausgewählt: 6-Acetylcodein, 7-Amino-Flunitrazepam, Amitriptylin, Amphetamin, Benperidol, Benzoylcegonin, Biperiden, Bromazepam, Carbamazepin, Chlorprothixen, Clozapin, Cocaethylen, Cocain, Codein, Diazepam, Dihydrocodein, Diphenhydramin, Doxepin, Doxylamin, Ecgoninmethylester, Flunitrazepam, Fluoxetin, Flupentixol, Fluphenazin, Haloperidol, Heroin, Levomepromazin, Lorazepam, 6-Monoacetylmorphin (6-MAM), 3,4-Methylendioxyamphetamin (MDA), 3,4-Methylendioxy-N-ethylamphetamin (MDE), 3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin (MDMA), Methadon, Methamphetamin, Midazolam, Mirtazapin, Morphin, Nordiazepam, Norflunitrazepam, Olanzapin, Oxazepam, Paroxetin, Perazin, Promethazin, Prothipendyl, Quetiapin, Risperidon, Temazepam, Tramadol, Venlafaxin und Zolpidem.

Im Rahmen der Methodvalidierung wurde mit dotierten Leerhaarproben gearbeitet und für jede Substanz die Nachweis- und Bestimmungsgrenze nach den Richtlinien der GTFCh mit Valstat ermittelt. Die Haaraufarbeitung erfolgte mittels Methanolextraktion von ca. 50mg zerkleinerter Haare nach KAUERT und RÖHRICH (1997). Bei jeder Analysesequenz wurde zusätzlich auch eine Leerhaarprobe mit aufgearbeitet, um mögliche Verschleppungen, die Reinheit der deuterierten Standards, sowie Artefakte aus der Aufarbeitung feststellen zu können. Die Leerhaare stammten von drogen- und medikamentenfreien Spendern, z.B.

Kindern, waren eigene Haare oder Haare von Labormitarbeitern. Vor der Verwendung wurden die Leerhaare auf Drogen- und Medikamentenfreiheit überprüft.

Es werden die Ergebnisse von Haarextrakten, die underivatisiert untersucht wurden, mit denen nach Derivatisierung mit Propionsäureanhydrid verglichen. In der Auswertung der Analysedaten werden zwei Auswertemethoden des Geräteherstellers (Analyst und MFE) verglichen und darüber hinaus den Ergebnissen der manuellen Integration gegenübergestellt. Die Auswertung erfolgte im Hinblick auf die Sensitivität und Spezifität.

Zusätzlich wurde eine klinische Studie an 40 Patienten der geschlossenen psychiatrischen Stationen des Universitätsklinikums Frankfurt am Main durchgeführt. Vor Studienbeginn wurde zunächst die Zustimmung der Ethikkommission zur Gewinnung von Haarproben stationärer Psychiatriepatienten eingeholt. Einschlusskriterium für die Studie war der kontinuierlich geschlossenen-stationäre Aufenthalt von mindestens 3 Wochen in der Psychiatrie. So war gewährleistet, dass die aktuelle Medikation im Haar schon erfasst werden konnte und die Einnahme der Arzneimittel kontrolliert geschah. Die Patienten wurden über die Studie aufgeklärt und unterschrieben eine schriftliche Einverständniserklärung zur Haarprobengewinnung. Anschließend wurde die Medikation aus der Patientenakte erhoben, aufgrund dieser Daten der zu untersuchende Haarabschnitt festgelegt und die Patientendaten anonymisiert festgehalten. Der zeitliche Rahmen, in dem Proben gewonnen wurden, betrug ca. 1 Jahr.

Einige Verdachtsfälle von Betäubungsmittelbeibringung, Suizidversuch und ein Drogentodesfall wurden untersucht, um zusätzliche Daten für fragliche einmalige Einnahmen von Substanzen zu gewinnen.

2 Grundlagen

Im Folgenden sind die wesentlichen Grundlagen zum Verständnis der in dieser Arbeit behandelten Themen erläutert.

2.1 Struktur und Wachstum menschlicher Haaren

Haare werden in den Haarfollikeln durch Zellteilung gebildet. Hier wird auch das Pigment Melanin gebildet und eingelagert und die Verhornung (Keratinisierung) beginnt. Während der Aushärtung sterben die Zellen unter Elimination des Zellkerns und Abgabe von Wasser ab, so dass das Haar eigentlich nur eine Zusammenlagerung abgestorbener Zellen ist. In dieser so genannten Anagenphase wächst das Kopfhaar mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von 1cm pro Monat. Studien von ORFANOS und HAPPLE (1990) oder PÖTSCH et al. (1996) stellten ein durchschnittliches Wachstum der Kopfhaare von 1,1 +/- 0,2cm / Monat fest. Viele andere Autoren bestätigen diese Ergebnisse, wie z.B. PELFINI et al. (1969), MIYAZAWA et al. (1992), PRAGST et al. (1998 und 2006). Die Wachstumsgeschwindigkeit ist abhängig von vielen Faktoren, wie z.B. Geschlecht, Alter, ethnischer Zugehörigkeit, Hormonstatus, Körperregion und Jahreszeit.

Nach ca. 5-7 Jahren Wachstum kontrahiert sich der Follikel innerhalb weniger Wochen (so genannte Katagenphase) und beendet die Keratinisierung. Das nun telogene Haar verbleibt bis zu 6 Monaten in seiner Position, bis es vom nachfolgenden Haar aus der Wurzel geschoben wird. Das menschliche Haar besteht zu ca. 85-90% aus Anagenhaaren, 7-9% sind telogene Haare und 1-3% befinden sich im Katagenstadium. Es besteht zu 65-95% aus Protein (90% Keratin) und hat in Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit ein Wassergehalt von 15-35%. Die Benetzung des Haares durch Talgdrüsen erklärt den Lipidgehalt von 1-9%.

2.2 Inkorporation von Fremdstoffen in Haare

Die Einlagerung von Fremdstoffen geschieht hauptsächlich bei der Haarentstehung in den Haarwurzeln. Während der Wachstumsphase erhalten die Haarfollikel alle für die Produktion nötigen Bausteine über feine Blutkapillaren, welche sämtliche aufgenommenen Fremdstoffen mit sich führen. Die Haarstruktur enthält eine Vielzahl funktioneller Gruppen aus Säuren, Basen und Peptiden, an die sich kleine Moleküle aus dem Blut anlagern

können. Die Aufnahme und Retention hängt von der chemischen Struktur der Substanz und der individuellen Haarbeschaffenheit ab, wobei die wichtigsten Faktoren laut Studien von NAKAHARA et al. (1995), JOSEPH et al. (1996) und PRAGST et al. (1997) Lipophilie, Basizität und Melaninaffinität darstellen.

Die geringere Durchlässigkeit von Biomembranen für polare Stoffe bedingt die relativ höheren Konzentrationen lipophiler Stoffe im Haar, verglichen mit ihren hydrophileren Metaboliten. In Keratinozyten und vor allem Melanozyten liegt der pH niedriger als im Extrazellulärraum, so dass ein Gradient entsteht und basische Stoffe besser aufgenommen werden. Bei hoher Melaninaffinität einer Substanz ist die Inkorporationsmenge stark von der Pigmentierung der Haare abhängig, also der Haarfarbe. Es kommt zur Fremdstoffakkumulation in den von Melanozyten abgegebenen Pigmentgranula, den Melanosomen. Die Melanosomen werden von Matrixzellen auf dem Weg zur Keratinisierungszone aufgenommen und führen zu erhöhten Fremdstoffkonzentrationen pigmentierter Haare gegenüber schwächer pigmentierten (ROTHE et al. 1997). Dass Fremdstoffakkumulation mit der Pigmentierung direkt zusammenhängt, wurde schon früher in Arbeiten von LINDQUIST (1973), BAWEJA et al. (1977), LYDEN et al. (1982) und INGS (1984) gezeigt. Generell gilt, dass Substanzen mit einer starken Eiweißbindung im Blutplasma zu relativ geringeren Konzentrationen im Haar führen als Stoffe, die weniger fest an Plasmaproteine binden.

Grundsätzlich ist zu erwarten, dass alle dem Körper zugeführten Stoffe auch in den Haaren eingelagert werden und so chronologisch angeordnet im Haar verbleiben. Da in den abgestorbenen Keratinozyten kein Stoffwechsel mehr stattfindet, dürften einmal eingelagerte Substanzen intern nicht weiter um- oder abgebaut werden. Bei haaranalytischen Konzentrationsbestimmungen stellen jedoch äußere Einflüsse einen Ungenauigkeitsfaktor dar, da die Substanzkonzentrationen durch Sonneneinstrahlung, Salzwasser, kosmetische Haarbehandlungen u.ä. vermindert werden können (PÖTSCH et al. 1997, YEGLES et al. 2000, TANAKA et al. 2002).

Eine externe Kontamination mit Substanzen kann trotz sorgfältiger präanalytischer Waschvorgänge ein positives Extraktionsergebnis erzeugen. Zu diesem Ergebnis kam unter anderem die Arbeitsgruppe von KIDWELL und BLANK in ihren Publikationen 1993 und 1995

und auch nachfolgende Untersuchungen anderer Autoren (WANG et al. 1995, ROMANO et al. 2001 und 2003) sprechen für die Theorie der direkten Internalisierung nach externer Kontamination.

Kontroverse Meinungen gehen auf gegenteilige Ergebnisse von NAKAHARA und BAUMGARTNER (1997), SCHAFFER (2002) und andere zurück, die eine Kontamination als nur selten auftretendes und durch Waschvorgänge zu behebendes Problem einschätzten. Nach heutigem Wissensstand können Substanzen auch über Rauch oder Flüssigkeiten ans Haar angetragen und internalisiert werden (THORSPECKEN et al. 2004). Zum Ausschluss einer äußerlichen Kontamination kann die Analyse der Waschflüssigkeiten wichtige Informationen liefern. Im Falle der Kontamination muss die nachgewiesene Konzentration in den Waschflüssigkeiten deutlich höher liegen als im Haar (plus > 20% des Extraktionswertes). Zum Ausschluss einer reinen Kontamination wird daher häufig gefordert, zusätzlich zu der Muttersubstanz auch Metabolite zu bestimmen, welche nur bei Körperpassage entstehen und nicht gleichzeitig Hydrolyse- oder Zerfallsprodukte sind. Bei einigen Substanzen wie z.B. Kokain kann beim Nachweis ihrer Metabolite (z.B. Cocaethylen, Norkokain) eine Kontamination sicher ausgeschlossen werden. Solche Metabolite sind jedoch nicht für jede Substanz bekannt und nachweisbar, problematisch ist auch ihre sehr viel geringere Konzentration im Verhältnis zur Ausgangssubstanz. Bei niedrigen Substanzkonzentrationen im Haar liegt die Konzentration der Metabolite im Allgemeinen unterhalb der Nachweisgrenze (Beispiel: Tetrahydrocannabinol). Sie können mit den üblichen gaschromatographisch-massenspektrometrischen Verfahren nicht mehr nachgewiesen werden. Die Notwendigkeit des Metabolitennachweises, insbesondere beim THC, wird in Fachkreisen durchaus kontrovers diskutiert.

Eine lineare Beziehung zwischen inkorporierter Stoffmenge und nachgewiesener Haarkonzentration konnte interindividuell bisher nur in vereinzelten Studien nachgewiesen werden, da zu viele individuelle Faktoren die Substanzaufnahme in die Haare beeinflussen und die Laboratorien unterschiedliche Extraktionsverfahren praktizieren. Es wurden jedoch in Studien Konsummengen für z.B. Heroin und Kokain dokumentiert, die in jedem Fall zu positiven Ergebnissen bei der Haaranalyse führten (Heroin: KINTZ et al. 1998; Cocain: HENDERSON et al. 1996). Auch wurde für einige Substanzen eine Korrelation von Dosis und

Haarkonzentration postuliert (COUPER et al. 1995, GOULLÉ et al. 1995 und SHEN et al. 2002), die Zuverlässigkeit haaranalytischer retrospektiver Aussagen ist aber nach wie vor umstritten.

2.3 Aktuelle Möglichkeiten der forensischen Haaranalytik

Forensisch-toxikologische Untersuchungen werden meist im Rahmen der Rechtspflege (straf- und verwaltungsrechtlich relevante Sachverhalte), aber ebenso auch bei klinischen Fragestellungen durchgeführt.

Beispiele zur aktuellen Anwendung haaranalytischer Methoden in der Forensik:

- Schulfähigkeitsbeurteilung
- Berufliche Eignung: so genanntes Work Place Drug Testing (vor allem USA)
- Abstinenznachweis zur Wiedererlangung der Fahreignung (Beispiel: Ethylglucuronidnachweis bei chronischem Alkoholkonsum)
- Todesursachenklärung (höhere letale Dosis bei regelmäßigem Konsum und Toleranzentwicklung gegenüber einer Substanz)
- Intoxikationsnachweis z.B. bei Exhumierungen
- Doping-Verdachtsfälle
- Bewährungsüberwachung
- Nachweis chronischer Exposition (Arbeitsmedizin: Umweltgifte, Schwermetalle; privat: Vergiftungsangst)
- Verdacht auf Beibringung betäubender Substanzen (so genannte K.O.-Tropfen) im Rahmen von Straftaten wie Raub oder Vergewaltigung
- Einnahmekontrolle/Monitoring von Medikamenten (v.a. Antidepressiva, Neuroleptika und Antikonvulsiva) bei psychiatrischen Patienten

Im Vergleich zur Analyse anderer biologischer Matrices sind einige Besonderheiten zu beachten, welche die Analyse des Probenmaterials und die Interpretation der Ergebnisse erschweren. Dies sind z.B. die individuelle Matrixheterogenität, Stabilität und Inkorporationsverhalten der Analyte und mögliche externe Kontamination.

Die Verfahren der Haaranalytik kombinieren nach der Extraktion in der Regel die chromatographische Trennung und massenspektrometrische Detektion. Immunochemische

Techniken sind zwar hoch spezifisch, aber wenig anpassungsfähig an neue Fragestellungen und mit dem Problem der Kreuzreaktionen behaftet. Es gibt viele Kombinationen aus immunchemischen Screeningverfahren, atomspektrometrischen Methoden und am häufigsten chromatographische-spektrometrische Messverfahren. Für toxikologische Analysen häufig genutzte chromatographische Trennverfahren sind die Gaschromatographie (GC) und die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC). Die aufgetrennten Moleküle können mit spektralphotometrischen Methoden wie Fluorimetrie oder Massenspektrometrie detektiert werden. In der Massenspektrometrie ist eine Ionenquelle die Grundlage, welche entweder eine chemische oder durch „electron-impact“ induzierte Ionisierung der Analyte bewirkt. Bei LC-MS-Kombinationen wird auch häufig die Elektro-Spray-Ionisation (ESI) angewendet. Verschiedene Massenfiter (Quadrupol, Ionenfallen, TOF-MS, Sektorfeld-MS) dienen dann der abschließenden Massenanalyse. Mittels GC-MS können simultan und relativ konstant Substanzen detektiert und quantifiziert werden (VINNER et al. 2003, CORDERO et al. 2007), daher wird diese Methode häufig für Bestätigungsanalysen verwendet. Auch LC-ESI-MS hat sich bewährt (HAODAN et al. 2000), eine neuere und noch weniger beforschte Kombination sind GC- oder LC-TOF MS (AEBI et al. 2002, KAWANISIHI et al. 2007). Im Rahmen dieser Arbeit kann nicht auf diese vielen verschiedenen Verfahren eingegangen werden, es folgt daher nur eine kurze Darstellung des benutzten LC-TOF MS unter 2.7.

2.4 Qualitätsstandards für spezielle Analyte bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen

Nach den Richtlinien der Fachgesellschaft GTFCh und DIN EN ISO/IEC 17025

In den Richtlinien der GTFCh (MUBHOFF et al. 1998, in Kraft gesetzt November 2004) werden für Labors, die forensisch-toxikologische Analysen durchführen, Qualitätsstandards bezüglich Laborausstattung, Gerätepflege, Hygiene, Haarentnahme, Lagerung der Proben, Haaraufarbeitung, Methodvalidierung und Auswertekriterien festgelegt. Die hier geforderten Bedingungen sind auch Voraussetzung für das Arbeiten mit dem Statistikprogramm Valistat (SCHMITT et al.).

Die Empfehlungen gelten bei Fragen zum Konsum (Nachweis oder Ausschluss) von illegalen Betäubungsmitteln und ausschließlich für die Analyse des wurzelnahen Haarsegmentes < 6cm.

Für spezielle Analyte werden quantitative Werte angegeben, welche die verwendete Bestätigungsmethode erfassen soll (Sensitivität).

Für den Nachweis eines vorangegangenen Heroinkonsums soll der charakteristische Metabolit 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) als Leitsubstanz benutzt werden. Die Methode muss empfindlich genug sein um 0,2ng/mg 6-MAM erfassen zu können. Ein Hinweis auf den möglichen Abbau von 6-MAM zu Morphin während der Haaraufarbeitung ist ein Verhältnis 6-MAM/Morphin < 1,3.

Der Nachweis von 0,2ng/mg Analyt ist auch die vorgeschriebene Empfindlichkeitsgrenze für die Designerdrogen Amphetamin und Methamphetamin mit ihren Metaboliten 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDA), 3,4-Methylenedioxymethamphetamin (MDMA), 3,4-Methylenedioxy-N-ethylamphetamin (MDE); außerdem Morphin, Methadon, Codein, Dihydrocodein und Cocain. Liegt im Bestätigungstest die Cocainkonzentration unter dem Cut-off-Wert von 1ng/mg, so wird die zusätzliche Detektion der Metabolite Benzoylcegonin, Cocaethylen, Ecgoninmethylester oder Norcocain für den Nachweis gefordert. Die Methode muss sensitiv genug sein um die Cocainmetabolite bis zu Werten von 0,1ng/mg zu erfassen.

Für die meisten der in dieser Arbeit untersuchten Substanzen bestehen noch keine Standards für eine zu fordernde Nachweisempfindlichkeit in Haaren.

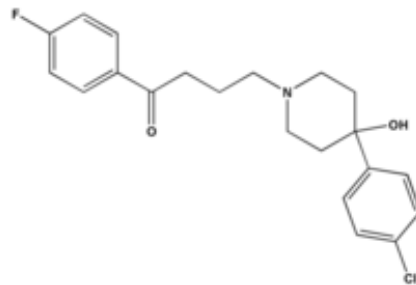
Die Validierung der Analysedaten erfolgte mit Valistat gemäß den Richtlinien der GTFCh, wodurch die Eignung und Zuverlässigkeit der Methode LC-TOF MS (in Kombination mit methanolischer Extraktion) für die haaranalytische Detektion aller untersuchten Analyte nachgewiesen werden soll.

2.5 Charakterisierung der untersuchten Substanzen

2.5.1 Neuroleptika

Es folgt eine kurze Charakterisierung der 13 untersuchten Neuroleptika.

2.5.1.1 Haloperidol



Handelsname: Haldol®

Substanzgruppe: Neuroleptikum, Dopamin-Antagonist (Butyrophenon)

Anwendung: Akute psychotische Syndrome (ausführliche Beschreibung siehe Rote Liste)

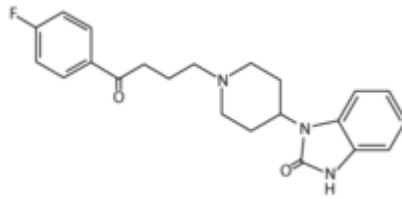
Dosierung: psychotische Störungen und Entzugssymptomatik: 5-10mg/d, Erhaltungsdosis 3-15mg/d in 2-3 Einzeldosen, Maximaldosis 100mg/d, dyskinetische Syndrome, Tic-Erkrankungen, Angstsyndrome oder Autismus: 0,5-2mg/d

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: In Untersuchungen waren die Therapieunterschiede der Probanden anhand ihrer quantitativen Haarbefunde nur grob nachvollziehbar (UEMATSU et al. 1990). Eine gute Korrelation der eingenommenen Dosierungen mit den Ergebnissen der Haaranalyse wurde hingegen in den Publikationen von MATSUNO et al. (1990) und NAKANO et al. (1994) belegt.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 2-25ng/mg, 8 Patienten und Tierversuche, segmentale Untersuchungen (SATO et al. 1989)
- 3,4-208ng/mg, 59 Patienten, 3-30mg (MATSUNO et al. 1990)
- 2,33-245ng/mg, 40 Patienten, 3-30mg (UEMATSU et al. 1990)
- 17 und 242ng/mg, 2 Todesfälle, Einnahme 5 und 30mg (COUPER et al. 1995)
- 20,1ng/mg, 1 Patient, 28mg (SHEN et al. 2002)
- 12,2 ng/mg, 1 Patient, 150mg in 3 Wochen (WEINMANN et al. 2002)

2.5.1.2 Benperidol



Handelsname: Glianimon ®

Substanzgruppe: hochpotentes Neuroleptikum (Butyrophenon)

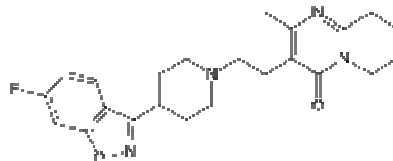
Anwendung: Ersatzmedikament bei akuten psychotischen Syndromen (ausführliche Beschreibung siehe Rote Liste)

Dosierung: 1-6mg/d, Steigerung auf höchstens 40mg/d empfohlen

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.1.3 Risperidon



Handelsname: Risperdal®

Substanzgruppe: Neuroleptikum

Anwendung: Chronische schizophrene Psychosen, schwere manische Episoden im Rahmen bipolarer Störungen, schwere chronische Aggressivität oder psychotische Symptome bei Demenz, aggressives Verhalten bei Intelligenzminderung

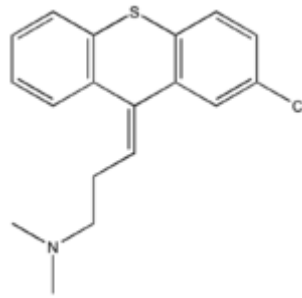
Dosierung: 0,5-6mg/d

Metabolite: 9-Hydroxyrisperidon

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- Nachweis in Haaren aber keine quantitative Auswertung (DOHERTY et al. 2007)

2.5.1.4 Chlorprothixen



Handelsname: Truxal®

Substanzgruppe: niedrigpotentes tricyclisches Neuroleptikum

Anwendung: Unruhe- und Erregungszustände im Rahmen akuter psychotischer Syndrome, Behandlung von maniformen Syndromen

Dosierung: akut 100-400mg/d bei schweren Unruhe- und Erregungszuständen im Rahmen von Psychosen, Erhaltungstherapie mit 30-200mg/Tag

Metabolite: Nortriptylin

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 30ng/mg, 1 Patient, 50mg täglich (SHEN et al. 2002)

2.5.1.5 Flupentixol

Handelsname: Fluanxol ®

Substanzgruppe: Neuroleptikum

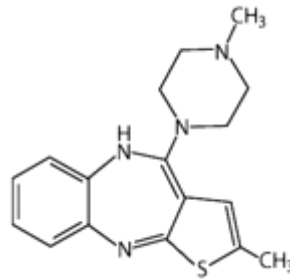
Anwendung: leichte bis mittelschwere Depression, Angststörungen, Langzeitbehandlung chronischer schizophrener Psychosen

Dosierung: 1-2mg bei leichter Depression, 20-100mg Flupentixoldecanoat (Depot) alle 4 Wochen bei Schizophrenie

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,22ng/mg, ein Patient, k.A. zur Dosis (MC CLEAN et al. 2000)
- < 0,011ng/mg, 1 Patient, 5mg (WEINMANN et al. 2002)

2.5.1.6 Olanzapin



Handelsname: Zyprexa®

Substanzgruppe: Atypisches Neuroleptikum, Dopaminantagonist

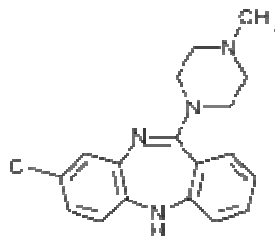
Anwendung: Schizophrenie, Aufrechterhaltung der klinischen Besserung, mäßig schwere bis schwere manische Episoden, Phasenprophylaxe bei Patienten mit bipolaren Störungen

Dosierung: Anfangsdosis 10mg/d, Zieldosisbereich 5-20mg/d

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.1.7 Clozapin



Handelsname: Leponex®

Substanzgruppe: Atypisches Neuroleptikum

Anwendung: Akute und chronische Formen schizophrener Psychosen bei Therapieresistenz, nach Versagen der Standardtherapie bei Psychosen im Verlauf eines M. Parkinson

Dosierung: Initialdosis 12,5mg, therapeutischer Dosisbereich 200-450mg/d, maximale Dosis 600-900mg/d. Bei Morbus Parkinson: Initialdosis 12,5mg/d, therapeutischer Bereich 25-37,5mg/d, Maximaldosis 100mg/d

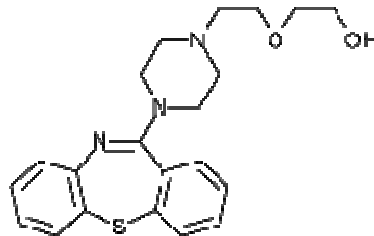
Metabolite: Desmethylclozapin

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Eine signifikante Korrelation zwischen Dosis und ermittelter Haarkonzentration postulierten COUPER et al. (1995) und SHEN et al. (2002) in ihren Publikationen. Nicht signifikant ist die Korrelation laut CIRIMELE et al. (2000).

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,79-54ng/mg, 11 Patienten, 75-600mg (ROTHE et al. 1997)
- 0,17-34,2ng/mg, 26 Patienten, 200-700mg, proximale 3cm (CIRIMELE et al. 2000)
- 0,17-34,2ng/mg, 16 Patienten, 150-435mg (SHEN et al. 2002)
- 0,92 und 0,62ng/mg, 2 Patienten, 150 und 400mg (WEINMANN et al. 2002)

2.5.1.8 Quetiapin



Handelsname: Seroquel®

Substanzgruppe: Atypisches Neuroleptikum

Anwendung: Schizophrenie, Behandlung von mäßigen bis schweren manischen Episoden, keine phasenprophylaktische Wirkung bewiesen

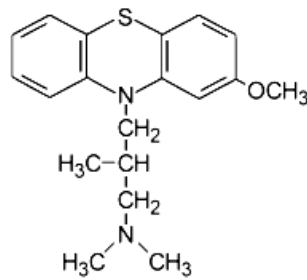
Dosierung: bei Schizophrenie einschleichen über 4 Tage, initial 50mg/d, Zieldosis zwischen 150 und 750mg Quetiapin/d, manische Episoden: 400-800mg/d

Metabolite: keine aktiven Metabolite

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.1.9 Levomepromazin



Handelsname: Neurocil®

Substanzgruppe: Neuroleptikum (Phenothiazin)

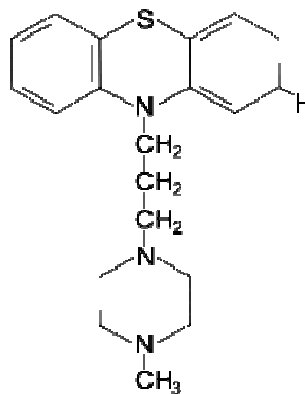
Anwendung: Psychomotorische Unruhe und Erregungszustände im Rahmen psychotischer Störungen, akute Erregungszustände bei manischen Depressionen, Kombinationstherapie bei schweren /chronischen Schmerzen

Dosierung: Einschleichen mit 15-30mg/d, steigern auf bis zu 75-150mg/d, maximale Tagesdosis 600mg, parenteral (i.m. oder i.v.) 100-150mg/d

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- trotz serologisch nachgewiesener Levomepromazinintoxikation negativer Haarbefund (KLYS et al. 2005)

2.5.1.10 Perazin



Handelsname: Taxilan®

Substanzgruppe: Neuroleptikum (Phenothiazin)

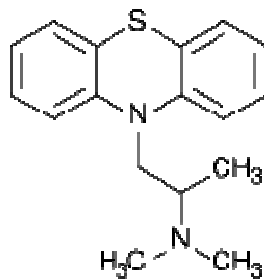
Anwendung: Akute psychotische Syndrome mit Wahn, Halluzinationen, Denkstörungen, Ich-Störungen, katatone Syndrome, chronisch verlaufende endogene und exogene Psychosen, maniforme Syndrome, psychomotorische Erregungszustände

Dosierung: Einschleichen in erster Behandlungswoche, orale Erhaltungsdosis 75-600mg, Höchstdosis 800mg

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.1.11 Promethazin



Handelsname: Atosil ®

Substanzgruppe: Neuroleptikum, Antihistaminikum, Sedativum (Phenothiazin)

Anwendung: Unruhe- und Erregungszustände im Rahmen psychiatrischer Grunderkrankungen, bei therapierefraktärem Erbrechen, Schlafstörungen, i.v. bei akuter allergischer Reaktion vom Soforttyp, wenn gleichzeitig sediert werden soll

Dosierung: maximal 4x25mg/d, kurzfristige Steigerung auf 3-4x50mg/d möglich

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.1.12 Fluphenazin

Handelsname: Lyogen®

Substanzgruppe: Neuroleptikum (Phenothiazin)

Anwendung: Akute psychotische Syndrome mit Wahn, Halluzinationen, Denkstörungen, Denkzerfahrenheit, Ich-Störungen, katatone Syndrome, chronisch verlaufende endogene Psychosen, psychomotorische Erregungszustände

Dosierung: initial bis 15mg/d, Langzeitbehandlung 3-6mg/d

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.1.13 Prothipendyl

Handelsname: Dominal®

Substanzgruppe: tricyclisches Neuroleptikum (Azaphenothiazin)

Anwendung: Psychomotorische Unruhe- und Erregungszustände im Rahmen psychiatrischer Grunderkrankungen

Dosierung: 3- 4 x täglich 80mg

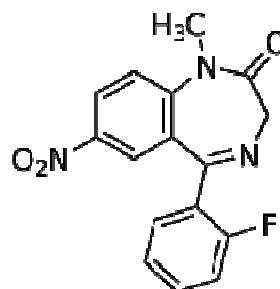
Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.2 Benzodiazepine

Es folgt eine kurze Charakterisierung der 8 untersuchten Benzodiazepine.

2.5.2.1 Flunitrazepam



Handelsname: Rohypnol®

Substanzgruppe: Hypnotikum

Anwendung: Kurzzeitbehandlung von Schlafstörungen mit klinisch bedeutsamem Schweregrad

Dosierung: 0,5-1mg unmittelbar vor dem Schlafengehen, Steigerung bis höchstens 2mg

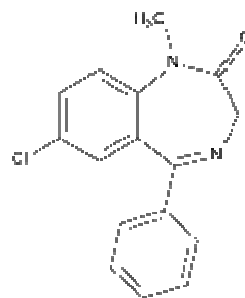
Metabolite: 7-Amino-Flunitrazepam, Norflunitrazepam

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Bei Flunitrazepam findet sich eine sehr variable Aufnahme der Muttersubstanz in die Haarmatrix; durchgängig bei allen Probanden nachgewiesen wurde dagegen der Metabolit 7-Amino-Flunitrazepam (NEGRUSZ et al. 2001).

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,072-0,089ng/mg, 1 Patient, chronischer Missbrauch (CIRIMELE et al. 1996)
- 0,09-0,148ng/mg, 115 vitale und postmortale Probanden, 31 positiv (CIRIMELE et al. 1997)
- 0,0031-0,120ng/mg (Mittelwert 0,060), 40 Drogentodesfälle, 14 positiv (CIRIMELE et al. 1997)
- 3,2-3,7ng/mg, 1 Drogenabhängiger, 5-8mg/d (EL MAHJOUB et al. 2001)
- 0,0008-0,0023ng/mg, 10 unbelastete Probanden, Einzeldosis 2mg, 5 positiv (NEGRUSZ et al. 2001)

2.5.2.2 Diazepam



Handelsname: Valium®, Valiquid®

Substanzgruppe: Tranquilizer

Anwendung: Bei akuten Angst-, Erregungs- und Spannungszuständen, Status epilepticus, Tetanus und vor chirurgischen und diagnostischen Eingriffen

Wirkung: anxiolytisch, antikonvulsiv, muskelrelaxierend und sedierend, lange Halbwertszeit von 24-48h

Dosierung: abhängig von Indikation 2-10mg, falls nötig auch Wiederholung möglich

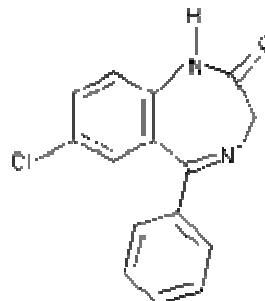
Metabolite: Oxazepam, Temazepam, Nordiazepam

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Einen bezüglich der Inkorporationsmenge relativ stabilen Einbau von Benzodiazepinen in Haare unter stationärer Therapie postulierte KRONSTRAND et al. (2002). Insgesamt werden jedoch deutlich niedrigere Konzentrationen erreicht als z.B. von illegalen Drogen.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 2,0-16,4ng/mg, 12 Patienten, 8 positiv (SRAMEK et al. 1992)
- 3,36-17,55ng/mg, 57 Neugeborene, Einnahme durch Mütter (KINTZ et al. 1993)
- 0,01-2,21ng/mg (Mittelwert 0,31), 21 Todesfälle, 15 positiv (YEGLES et al. 1997)
- 1,23ng/mg, 1 Patient, 8mg Diazepam + 20mg Temazepam/d (MC CLEAN et al. 1999)
- 0,06ng/mg, 1 Todesfall (YEGLES et al. 2000)
- 0,05-1,41ng/mg, 8 psychiatrische Patienten, Segmentanalysen (KRONSTRAND et al. 2002)

2.5.2.3 Nordiazepam



Handelsname: Tranxilium®

Substanzgruppe: Tranquilizer

Anwendung: Symptomatische Behandlung akuter oder chronischer Angst-, Spannungs- und Erregungszustände, als Schlafmittel, wenn gleichzeitige sedierende Wirkung am Tag erwünscht ist

Dosierung: Ca. 5mg als abendliche Einmaldosis, maximale Tagesdosis 15-20mg

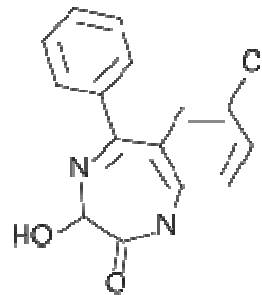
Metabolite: Oxazepam

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Siehe Diazepam

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,02-18,9ng/mg (Mittelwert 4,16), 115 vitale und postmortale Probanden, 42 positiv (KINTZ et al. 1996, VAYSSETTE et al. 1996, CIRIMELE et al. 1997)
- 0,13-1,83ng/mg (Mittelwert 0,49), 21 Todesfälle, 20 positiv (YEGLES et al. 1997)
- 0,99ng/mg, 1 Todesfall (YEGLES et al. 2000)
- 0,07-0,60ng/mg, 8 psychiatrische Patienten, Segmentanalysen (KRONSTRAND et al. 2002)

2.5.2.4 Oxazepam



Handelsname: Adumbran®, Durazepam®

Substanzgruppe: Tranquilizer

Anwendung: Symptomatische Behandlung von akuten und chronischen Angst-, Spannungs- und Erregungszuständen, Durchschlafstörungen, langsamerer Wirkungseintritt als bei anderen Benzodiazepinen, daher für akute Situationen etwas schlechter geeignet, Wirkungsdauer 8–12 Stunden

Dosierung: 20-30mg/d Oxazepam in 2-3 Einzeldosen, maximale Tagesdosis 60mg, bei Durchschlafstörungen abends 10mg Oxazepam etwa ½ Stunde vor dem Schlafengehen

Metabolite: Oxazepam ist ein pharmakologisch aktiver Metabolit von Diazepam und Nordiazepam und bildet selber keine aktiven Metabolite mehr.

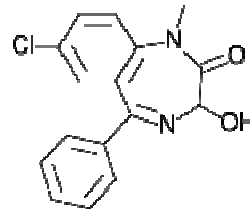
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Siehe Diazepam

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,78-31,83ng/mg, 57 Neugeborene, Einnahme durch die Mütter (KINTZ et al. 1993)

- 0,10-0,50ng/mg (Mittelwert 0,28), 115 vitale und postmortale Probanden, 14 positiv (KINTZ et al. 1996, VAYSSETTE et al. 1996, CIRIMELE et al. 1997)
- 0,20-3,44ng/mg (Mittelwert 1,75), 21 Todesfälle, 15 positiv (YEGLES et al. 1997)
- 0,47ng/mg, 1 Patient, 20mg Temazepam/d + 8mg Diazepam/d (MC CLEAN et al. 1999)

2.5.2.5 Temazepam



Handelsname: Remestan®, Temazep®, Planum®

Substanzgruppe: Hypnotikum

Anwendung: Kurzzeitbehandlung von Schlafstörungen, mittellang wirksames Benzodiazepin mit einer Halbwertszeit von 5 bis 13 Stunden

Dosierung: Einzeldosis von 10-20mg vor dem Schlafengehen

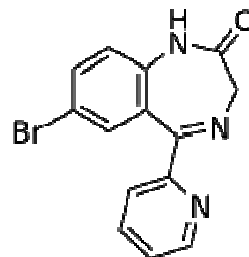
Metabolite: keine aktiven Metabolite

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Siehe Diazepam

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,96ng/mg, 1 Patient, 20mg Temazepam/d + 8mg Diazepam/d (MC CLEAN et al. 1999)

2.5.2.6 Bromazepam



Handelsname: Bromazep®, Durazenil®, Lexostad®

Substanzgruppe: Tranquilizer

Anwendung: Symptomatische Behandlung von akuten und chronischen Spannungs-, Erregungs- und Angstzuständen, als Schlafmittel nur dann, wenn gleichzeitig eine Tranquilisation am Tage erforderlich ist

Dosierung: Initial 3mg ca. 1 h vor dem Schlafengehen, Steigerung bis maximal 3x6mg/d möglich

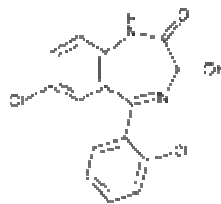
Metabolite: keine aktiven Metabolite

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Siehe Diazepam

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 28pg/mg in prox. 1cm, einmalige Bromazepam 6mg, 1 Kriminalfall (CHEZE et al. 2004)

2.5.2.7 Lorazepam



Handelsname: Tavor®

Substanzgruppe: Tranquilizer

Anwendung: Symptomatische Kurzzeitbehandlung von Angst-, Spannungs- und Erregungszuständen und dadurch bedingten Schlafstörungen, Sedierung vor diagnostischen sowie vor und nach operativen Eingriffen

Dosierung: 0,5-2,5mg auf den Tag verteilt (2-3 Einzeldosen) oder abendliche Einmaldosis, Maximaldosis 7,5mg/d

Metabolite: keine aktiven Metabolite

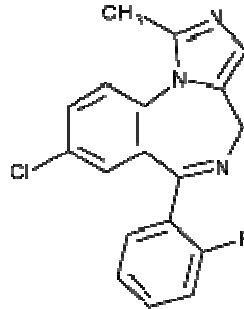
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Siehe Diazepam

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,031-0,049ng/mg, 115 vitale und postmortale Probanden, 1 positiv (CIRIMELE et al. 1996 und 1997)

- 4,9ng/mg, 21 Todesfälle, 1 positiv (YEGLES et al. 1997)
- Bestimmungsgrenze 1pg/mg, kein Nachweis im Haar möglich, 3 Probanden einmal 2,5mg Lorazepam (KINTZ et al. 2004)

2.5.2.8 Midazolam



Handelsname: Dormicum®

Substanzgruppe: Kurzhypnotikum

Anwendung: Schlafinduzierendes Mittel mit kurzer Wirkungsdauer, geeignet zur Analgosedierung vor und während Eingriffen, zur Prämedikation vor Narkoseeinleitung, Sedierung auf der Intensivstation, Antidot: Flumazenil

Dosierung: Analgosedierung von Erwachsenen: Anfangsdosis 2-2,5mg i.v., Titrationsdosis 1mg, Gesamtdosis 3,5-7,5mg

Metabolite: 1-Hydroxymidazolam

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Siehe Diazepam

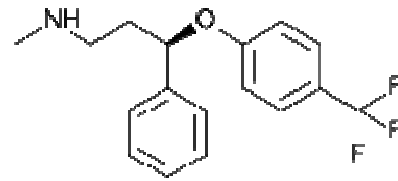
Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,59-0,71ng/mg, 1 Krankenschwester, Todesfall nach chronischem Missbrauch (CIRIMELE et al. 2002)

2.5.3 Antidepressiva

Es folgt eine kurze Charakterisierung der 6 untersuchten antidepressiv wirksamen Substanzen.

2.5.3.1 Fluoxetin



Handelsname: Fluctin®, Fluxet®, Prozac® (USA,GB)

Substanzgruppe: Antidepressivum (SSRI)

Anwendung: Episoden einer Major-Depression, Zwangsstörungen, Bulimia nervosa als Ergänzung zur Psychotherapie (Reduktion von Essattacken und selbst induziertem Erbrechen)

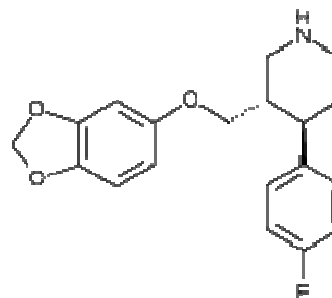
Dosierung: 20-60mg/d

Metabolite: Norfluoxetin

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,27 und 7,2ng/mg, 2 Todesfälle, k.A. zur Dosis (SPORKERT et al. 2001)

2.5.3.2 Paroxetin



Handelsname: ParoLich®, Seroxat®

Substanzgruppe: Antidepressivum (SSRI)

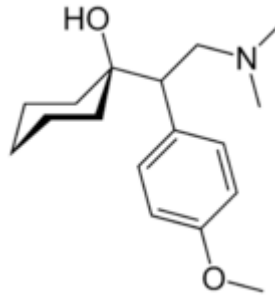
Anwendung: Depressive Erkrankungen, Zwangsstörungen, Panikstörungen, Agoraphobie, soziale Anststörungen und Phobien, generalisierte Angststörungen, posttraumatische Belastungsstörungen

Dosierung: 20-60mg/d

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- Nachweis in Haaren aber keine quantitative Auswertung (DOHERTY et al. 2007)

2.5.3.3 Venlafaxin



Handelsname: Trevilor®

Substanzgruppe: Antidepressivum (SNRI)

Anwendung: Depressive Erkrankungen, Depressionen mit begleitenden Angstzuständen, retardierte Präparate auch bei generalisierten Angststörungen, sozialen Angststörungen, Agoraphobie

Dosierung: initial 2 x 37,5-150mg täglich, maximale Tagesdosis 375mg (in 3 Einzeldosen)

Metabolite: O-Desmethyl-Venlafaxin, N-Desmethyl-Venlafaxin

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- Krankenschwester postmortem nach antidepressiver Therapie (KLINZIG et al. 2007)

2.5.3.4 Doxepin

Handelsname: Aponal®

Substanzgruppe: Tricyclisches Antidepressivum

Anwendung: Depressive Erkrankungen, Angstsyndrome, leichte Entzugssyndrome bei Alkohol-, Arzneimittel- oder Drogenabhängigkeit, Unruhe, Angst, Schlafstörungen, funktionelle Organbeschwerden

Dosierung: Depressive Syndrome und Angstsyndrome: initial 50mg am Abend, langsame Steigerung auf 100-150mg/d, maximale orale Tagesdosis 300mg, Entzugssyndrome: In den ersten 3 Tagen 3x50mg/d, danach langsame Dosisreduktion

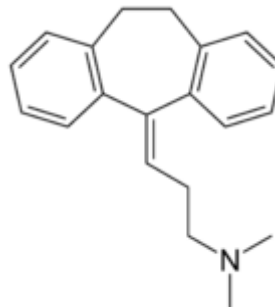
Metabolite: Nordoxepin

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Von NEGRUSZ et al. (1998) wurde eine zeitlich verzögerte Aufnahme ins Haar mit anschließender Kumulation in der Haarwurzel festgestellt. Die Substanz wurde also noch über den Einnahmezeitraum hinaus im Haar detektiert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 7,7-87ng/mg, 2 Todesfälle, therapeutische Einnahme (COUPER et al. 1995)
- 0,99-3ng/mg (Mittelwert 1,71), 3 Patienten, 0,13-0,46mg/kg + 3 Todesfälle (PRAGST et al. 1997)
- 0,09-0,59ng/mg, 1 Patient, 25mg über 4 Monate, mehrfache Probenentnahmen (NEGRUSZ et al. 1998)
- 6,1 und 3,2ng/mg, 2 Todesfälle (SPORKERT et al. 2000)
- 0,37-3,3ng/mg, 3 Todesfälle, k.A. zur Dosis (SPORKERT et al. 2001)
- 55,5-183,3ng/mg, 5 Patienten, 100-250mg (SHEN et al. 2002)

2.5.3.5 Amitriptylin



Handelsname: Amineurin®, Saroten®

Substanzgruppe: Tricyclisches Antidepressivum (Abkömmling von Chlorprothixen)

Anwendung: Alle Formen des depressiven Syndroms, retardiert auch langfristige Schmerzbehandlung im Rahmen eines therapeutischen Gesamtkonzeptes

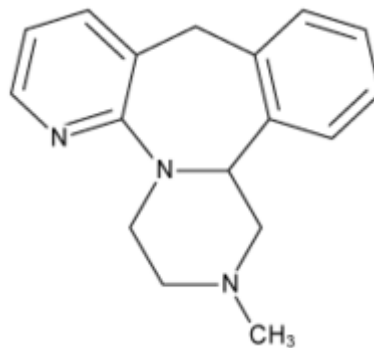
Dosierung: initial 50-75mg/Tag, Erhaltungsdosis 75-150mg, maximale Dosis 300mg/d.

Metabolite: Nortriptylin

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0-17,2ng/mg, 30 Patienten, insgesamt 100mg-6g / 2 Monate (TRACQUI et al. 1992)
- 3,4-34ng/mg (Mittelwert 18), 6 Todesfälle, bekannte therapeutische Einnahme (COUPER et al. 1995)
- 12,8-23,9ng/mg, 3 Patient, 25-50mg (TRANQUI et al. 1996)
- 0,6-11ng/mg (Mittelwert 4), 25 Pat., 0,13-2,11mg/kg, segmentweise Untersuchung (PRAGST et al. 1997)
- 1,6-25ng/mg, 1 Patient, 6 Tage überlebte Überdosis bei chronischer Einnahme (PRAGST et al. 1998)
- 0,22 / 0,29 / 4,84ng/mg, 3 Todesfälle, therapeutische Einnahme bekannt (SPORKERT et al. 2000)
- 0,38-16,6ng/mg, 4 Todesfälle, k.A. zur Dosis (SPORKERT et al. 2001)
- 2,5-57,5ng/mg, 3 Patienten, 5-25mg (SHEN et al. 2002)

2.5.3.6 Mirtazapin



Handelsname: Remergil ®

Substanzgruppe: Tetracyclisches Antidepressivum

Anwendung: Depressive Erkrankungen

Dosierung: 15-60mg/d, vorzugsweise als Einmaldosis abends zum Einschlafen

Metabolite: Demethylmirtazapin

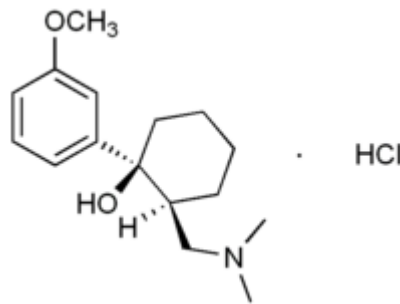
Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- Nachweis in Haaren ohne quantitative Auswertung (DOHERTY et al. 2007)

2.5.4 Opioide

Es folgt eine kurze Charakterisierung der 4 untersuchten opioiden Substanzen.

2.5.4.1 Tramadol



Handelsname: Tramal®

Substanzgruppe: Analgetikum

Anwendung: Mäßig starke bis starke Schmerzen

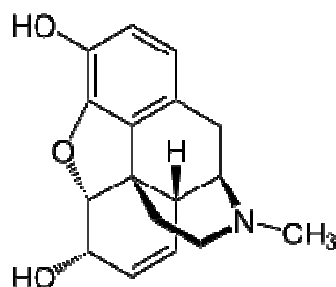
Dosierung: 1-1,5mg/kg initial, Wirkungsbeginn nach 20 min, hält 4-8 h an. Zur Schmerztherapie meist als Tropfen: 20 Tr. entsprechen 50mg, ggf. wiederholen wenn innerhalb einer Stunde keine Besserung; bei zu erwartenden starken Schmerzen Einzeldosis von 40 Tr. ansetzen, Tageshöchstdosis von 160 Tr. (entspricht 400mg)

Metabolite: O-Desmethyl-Tramadol, N-Desmethyl-Tramadol

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,08 und 0,22ng/mg, 2 Fälle von regelmäßiger therapeutischer Einnahme + Missbrauch (RICKERT et al. 1999)
- 0,78 und 1,14ng/mg, 2 Todesfälle, chronische Einnahme (SPORKERT et al. 2000)

2.5.4.2 Morphin



Handelsname: (MST®)

Substanzgruppe: Narkoanalgetikum

Anwendung: Starke und stärkste Schmerzen, erst nach mehrmaligen Injektionen euphorisierende Wirkungskomponente mit Suchtpotential, Toleranzentwicklung, psychischer und physischer Entzug

Dosierung: Einzeldosis i.m. oder s.c. 10-30mg, i.v. 5-10mg; letale Dosis je nach Toleranz oral 0,2-1,5g

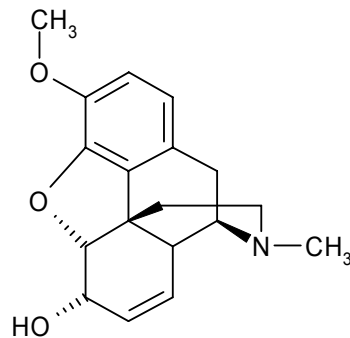
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Einen Korrelationskoeffizienten von 0,463 zwischen mittlerer täglicher Aufnahme von Morphin im Rahmen einer Tumorschmerztherapie und detektierter Haarkonzentration postulierten GOULLÉ et al. 1997. Von XIANG et al. wurde 2006 mit LC-MS-MS eine Nachweisgrenze von 0,01ng/mg für Morphin veröffentlicht. Eine Methodenvalidierung der Kombination von kapillarelektrophoretischer ESI mit TOF-MS und eine Bestimmung der Nachweisgrenze für Morphin < 0,1ng/mg wurde von GOTTARDO et al. 2007 publiziert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 6-MAM 0,09-67,11ng/mg (Mittelwert 4,38) + Morphin 0,03-2,85ng/mg (Mittelwert 0,39), 19 Heroin-Konsumenten (GOLDBERGER et al. 1991)
- 6-MAM 0,003-79,82ng/mg (Mittelwert 5,49) + Morphin 0,01-7,8ng/mg (Mittelwert 0,86), 141 Btm-Konsumenten (KAUERT et al. 1996)
- 6-MAM 0,7-131,2ng/mg (Mittelwert 14,2) + Morphin 0,4-44,6ng/mg (Mittelwert 5,7), 33 Btm-Konsumenten (GAILLARD et al. 1997)
- 6-MAM 0,38-10,11ng/mg (Mittelwert 4,19) + Morphin 0,71-5,2ng/mg (Mittelwert 2,44), 20 Heroinsubstituenten (KINTZ et al. 1998)
- 6-MAM 0,3-7,4ng/mg (Mittelwert 1,85) + Morphin 0,3-1,3ng/mg (Mittelwert 0,73), 13 Heroin-Todesfälle (KRONSTRAND et al. 1998)
- 6-MAM 0-64,8ng/mg (Mittelwert 7,2) + Morphin 0-53,7ng/mg (Mittelwert 3,7), 73 Btm-Konsumenten (GIROD et al. 2001)

- 6-MAM 0-37,3ng/mg (Mittelwert 3,8) + Morphin 0-15,1ng/mg (Mittelwert 5,4), 43 Heroinsubstituenten (GIROD et al. 2001)
- 2 bis 200ng/10mg bei 69 Heroinsüchtigen; 0.05-0.48ng/10 mg (Mittelwert 0.17ng/10 mg) nach Verzehr von 150g Mohn über 3 Wochen (HILL et al. 2005)
- Nachweisgrenze 200pg/mg für Morphin + Klinikfälle (LIN et al. 2007)

2.5.4.3 Codein



Handelsname: Voltaren Plus® (Codein + Diclofenac), Azur® (Codein + Paracetamol + Coffein)

Substanzgruppe: Antitussivum, Analgetikum

Anwendung: Reizhusten, stärkere Schmerzen

Dosierung: Einzeldosis von 5-15mg, maximale Tagesdosis 200mg

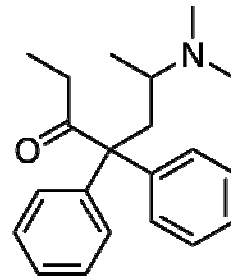
Metabolite: Morphin (bis 10%)

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Eine geschlechtsabhängige, unregelmäßige Inkorporation von Codein in die Haarmatrix postulierte WILKINS et al. (1995). Einen Korrelationskoeffizienten von 0,539 zwischen mittlerer täglicher Aufnahme von Codein im Rahmen einer Tumor-Schmerztherapie und detektierter Haarkonzentration postulierten GOULLÉ et al. 1997. Eine Methodvalidierung der Apparatekombination kapillarelektrophoretische ESI mit TOF-MS und eine Bestimmung der Nachweisgrenze für Codein < 0,1ng/mg wurde von GOTTARDO et al. 2007 publiziert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- Nachweisgrenze 100pg/mg für Codein + Klinikfälle (LIN et al. 2007)
- 57,5 – 93,7ng/mg in Haaren nach Morphineinnahme (SARAFRAZ YASDI et al. 2005)

2.5.4.4 Methadon



Handelsname: Methaddict®, L-Polamidon®, Ketalgin®

Substanzgruppe: synthetisches Opioid

Anwendung: seit 1960 Einsatz als Opiatersatzstoff (Substitution von Heroinabhängigen), selten als Schmerzmittel bei Tumorerkrankungen

Dosierung: orale Einnahme von 40-120mg/d

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Es ist keine interindividuelle Korrelation von eingenommener Wirkstoffmenge zu detektierter Haarkonzentration nachweisbar (PATERSON et al. 2003).

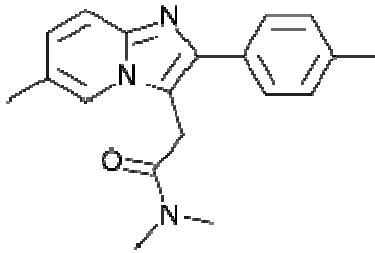
Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,36-11,8ng/mg, 19 Todesfälle (SPORKERT et al. 2002)

2.5.5 Sonstige

Es folgt eine kurze Charakterisierung von 4 untersuchten sedierenden, anticholinergen, antiepileptischen und antihistaminergen Substanzen.

2.5.5.1 Zolpidem



Handelsname: Stilnox

Substanzgruppe: Hypnotikum, Sedativum

Anwendung: Zur Kurzzeitbehandlung von Schlafstörungen

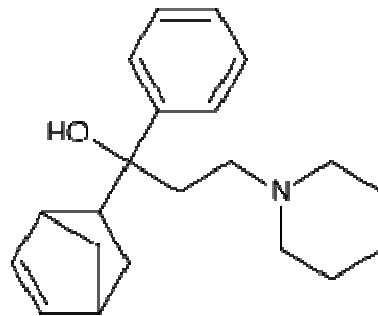
Dosierung: Tageshöchstdosis 10mg direkt vor dem Schlafengehen

Metabolite: keine aktiven

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 2,9ng/mg, 1 Todesfall, chronische Einnahme (GAILLARD et al. 1997)
- 9,7ng/mg, 1 Todesfall (GAILLARD et al. 1997)
- 0,75pg/mg, 1 Vergewaltigung (KINTZ et al. 2005)

2.5.5.2 Biperiden



Handelsname: Akineton ®

Substanzgruppe: Parkinson-Mittel (Anticholinergikum)

Anwendung: Parkinson-Syndrome, insbesondere Rigor und Tremor, medikamentös bedingte und sonstige extrapyramidale Symptome, Nikotinvergiftung, Vergiftung durch organische Phosphorverbindungen

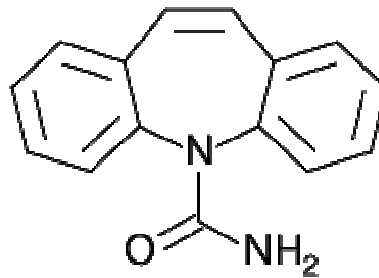
Dosierung: Einschleichen mit 2mg/d, Erhaltungsdosis 6-12mg/d, bei medikamentös bedingten extrapyramidalen Symptomen 2,5-5mg i.m. oder i.v.

Metabolite: keine

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.5.3 Carbamazepin



Handelsname: Tegretal ®

Substanzgruppe: Antiepileptikum

Anwendung: Epilepsien (ausführliche Beschreibung siehe Rote Liste)

Dosierung: nach Einschleichen Erhaltungstherapie mit 600-1200mg/d, in Ausnahmefällen bis 1600mg/d

Metabolite: 10,11-Carbamazepin-Epoxid

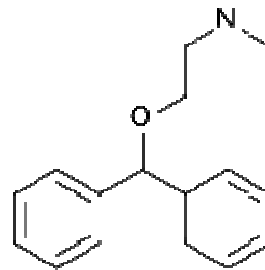
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Die intraindividuelle Aufnahme ins Haar korreliert gut mit den Einnahmedosierungen (TSATSAKIS et al. 1997, WILLIAMS et al. 1997 und 2001, MIECZKOWSKI et al. 2001).

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 1,2-57,4ng/mg, 30 Patienten, 200-2000mg, Segmentanalyse (KINTZ et al. 1995)
- 7,6-205ng/mg (Mittelwert 70), 26 Patienten, 300-2800mg (ROTHER et al. 1995 und 1997)
- 0,6-63,7ng/mg, 14 ambulante Patienten, k.A. zur Dosis (MEI et al. 1997)
- 7-28ng/mg, 1 Patient, 400mg, Segmentanalyse (SARIS et al. 1997)

- 13,9-66,3ng/mg, 17 Patienten, 200-1200mg (TSATSAKIS et al. 1997)
- 25,6-169,5ng/mg, 27 Patienten, 800-2400mg, monatliche Entnahmen (WILLIAMS et al. 1997 und 2001)
- 9,9-48,7ng/mg, 40 Patienten, 200-1000mg, Segmentuntersuchung (PSILLAKIS et al. 1999)
- 2,8-22,5ng/mg, 6 Patienten, 200-400mg (SHEN et al. 2002)
- 12,1-75,7ng/mg, 15 Mütter von Neugeborenen, 600-1200mg, Segmentanalyse (WILLIAMS et al. 2002)

2.5.5.4 Diphenhydramin



Handelsname: Vivinox®, Emesan®, Betadorm®

Substanzgruppe: Sedativum, Antiemetikum (Antihistaminikum)

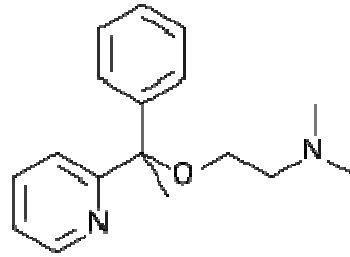
Anwendung: Einschlaf- und Durchschlafstörungen, Prophylaxe und symptomatische Therapie von Übelkeit und Erbrechen unterschiedlicher Genese, insbesondere von Kinetosen

Dosierung: 25-50mg

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 2,0 und 3,7ng/mg, 2 Todesfälle, bekannte Einnahme (SPORKERT et al. 2000)

2.5.5.5 Doxylamin



Handelsname: Hoggar® N, SedaPlus®,

Wick MediNait® (Doxylamin + Ephedrin + Paracetamol)

Substanzgruppe: Sedativum (Antihistaminikum)

Anwendung: Ein- und Durchschlafstörungen

Dosierung: 25mg 0,5-1 Stunde vor dem Schlafen gehen

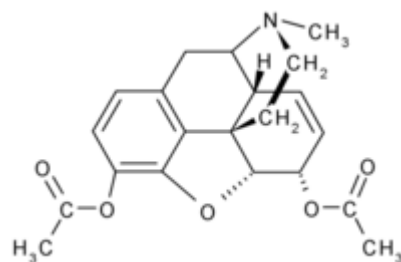
Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- keine (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007)

2.5.6 Drogen

Es folgt die kurze Charakterisierung der 4 untersuchten illegalen Betäubungsmittel.

2.5.6.1 Heroin



Substanzgruppe: halbsynthetisches Opioid (syn. Diacetylmorphin)

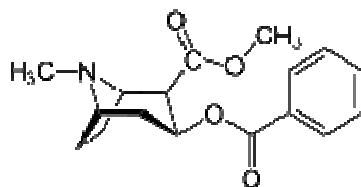
Anwendung: 1896-1958 therapeutischer Einsatz als Analgetikum und Antitussivum, seit 1971 verboten und als illegales Rauschmittel konsumiert, Antidot Naloxon

Dosierung: 400-600mg/d bei Abhängigkeit, Toleranzentwicklung

Metabolite: 6-Monoacetylmorphin, Morphin, Morphin-6-Glucuronid, Morphin-3-Glucuronid (inaktiv), Normorphin

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Einige Autoren ermittelten korrelierende Ergebnisse, wie z.B. BAUMGARTNER et al. (1979), CONE et al. (1990), NAKAHARA et al. (1992), GYGI et al. (1995), KAUERT et al. (1996), ROLLINS et al. (1996) und PÉPIN et al. (1997). In Untersuchungen von KINTZ et al. (1995), GOULLE et al. (1997), KINTZ et al. (1998) und GIROD et al. (2001) ist jedoch keine eindeutige Dosis-Konzentrationsbeziehung von Heroin-Konsum zu ermittelter 6-MAM-, Morphin- oder Heroinkonzentration im Haar nachzuweisen, selbst unter kontrollierter Aufnahme wurden große interindividuelle Schwankungen festgestellt.

2.5.6.2 Cocain



Substanzgruppe: Stimulans (DA/NA/5HT-Reuptake-Inhibitor, Tropan-Alkaloid)

Anwendung: illegaler Abusus, oral, intranasal, i.v. oder inhalativ; als bis zu 20%ige Salbe zugelassen bei operativen Eingriffen am Auge (Anlage 2 §1 Abs.1 BtMG)

Historisch: nach 1879 zum Morphin-Entzug, nach 1884 als Lokalanästhetikum, bis 1906 in Coca-Cola

Dosierung: 20-50mg (Reinheitsgehalt auf dem Schwarzmarkt 35-85%)

Metabolite: Benzoylecgonin, Cocaethylen, Ecgoninethylester

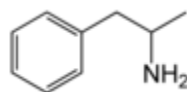
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Interindividuell bestehen große Unterschiede im Inkorporationsverhalten, so dass sich keine eindeutige Dosis-Konzentrationsbeziehung herstellen lässt (HENDERSON et al. 1996 und 1998). Einige Autoren fanden Korrelationen zwischen Konsummenge und quantitativem Haarbefund (FORMAN et al. 1992, KAUERT et al. 1996, PÉPIN et al. 1997, ELMAN et al. 2000). Eine Methodvalidierung der

Apparatekombination kapillarelektrophoretische ESI mit TOF-MS und eine Bestimmung der Nachweisgrenze für Cocain $< 0,1\text{ng/mg}$ wurde von GOTTARDO et al. 2007 publiziert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 6,4-19,2ng/mg (Mittelwert 10,7), 10 Drogenkonsumenten (CONE et al. 1991)
- 6,6-268,6ng/mg (Mittelwert 60), 15 schwangere Frauen (CONE et al. 1991)
- 1-22,9ng/mg (Mittelwert 15,2), 5 Coca-Kauer (HENDERSON et al. 1992)
- 1,7-45,2ng/mg (Mittelwert 18,2), 20 Coca-Kauer (MÖLLER et al. 1992)
- 0,4-76ng/mg (Mittelwert 15,7), 20 Drogenkonsumenten (CONE et al. 1993)
- 1,8-421ng/mg (Mittelwert 65,4), 29 schwangere Frauen (DI GREGORIO et al. 1994)
- 0,5-216,5ng/mg (Mittelwert 12,9), 67 Drogenkonsumenten (KINTZ et al. 1995)
- 0,5-242ng/mg, 48 Fälle, 0,5- $> 20\text{mg}$ (PÉPIN et al. 1997)
- 7,1-40,7ng/mg (Mittelwert 17,6), 10 Drogenkonsumenten (HÖLD et al. 1998)
- 0,4-35,5ng/mg (Mittelwert 10,4), 30 Cocainkonsumenten (BOURLAND et al. 2000)
- 0,29-45,2ng/mg, 8 Drogentote (CLAUWAERT et al. 2000)

2.5.6.3 Amphetamin



Substanzgruppe: synthetisches Sympathomimetikum

Anwendung: Psychostimulans (Btm)

Dosierung: 5-20mg

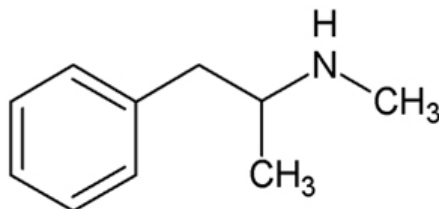
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Designer-Drogen vom Amphetamintyp können auch über Schweiß ins Haar eingelagert werden, daher ist eine chronologische Interpretation der Segmente schwierig (ROTHE et al. 1997). Eine Methodvalidierung der

Apparatekombination kapillarelektrophoretische ESI mit TOF-MS und eine Bestimmung der Nachweisgrenze für Amphetamin $< 0,1\text{ng/mg}$ wurde von GOTTARDO et al. 2007 publiziert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,5-0,9ng/mg, 11 Patienten (SUZUKI et al. 1989)
- 0,96-12,71ng/mg, 3 Patienten (KINTZ et al. 1992)
- 0,02-6,52ng/mg (Mittelwert 0,84), 28 Patienten (RÖHRICH et al. 1997)
- 0,1-4,8ng/mg, 20 Patienten (ROTHER et al. 1997)
- 0,4-18,3ng/mg, 11 Patienten (KRONSTRAND et al. 1998)
- 0,03-3,44ng/mg, 39 Patienten (IWERSEN-BERGMANN et al. 2000)
- 0,7-97,7ng/mg (Mittelwert 12,5), 56 Patienten (COOPER et al. 2000)
- 0,08-1,22ng/mg, 10 Patienten (GAILLARD et al. 2000)
- 0,2-21,8ng/mg, 20 Patienten (MUSSHOFF et al. 2002)

2.5.6.4 Methamphetamin



Substanzgruppe: synthetisches Sympathikomimetikum

Anwendung: Psychostimulans (Btm), Szenename: Speed, Crystal

Dosierung: 2-25mg

Metabolite: Amphetamin

Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Eine Übereinstimmungen der Angaben von Konsumenten mit der Verteilung von Methamphetamin in den Haarsegmenten stellten NAKAHARA et al. (1995) fest.

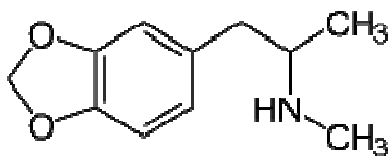
Designer-Drogen vom Amphetamintyp können auch über Schweiß ins Haar eingelagert werden, daher ist eine chronologische Interpretation der Segmente schwierig (ROTHE et al. 1997).

Eine Methodvalidierung der Apparatekombination kapillarelektrophoretische ESI mit TOF-MS und eine Bestimmung der Nachweisgrenze für Methamphetamin $< 0,1\text{ng/mg}$ wurde von GOTTARDO et al. 2007 publiziert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,6-15,8ng/mg, 11 Patienten (SUZUKI et al. 1989)
- 0,21-0,39ng/mg, 39 Patienten (IWERSEN-BERGMANN et al. 2000)
- 0,6-32,3ng/mg (Mittelwert 5,2), 56 Patienten (COOPER et al. 2000)
- 0,1-9,6ng/mg, 20 Patienten (MUSSHOFF et al. 2002)
- 0,3-1,91ng/mg, 13 Patienten (SKENDER et al. 2002)
- Nachweisgrenze 50pg/mg für Methamphetamin + Klinikfälle (LIN et al. 2007)

2.5.6.5 MDMA



Substanzgruppe: Phenyletylamin, synthetisches Amphetaminderivat

Anwendung: Psychostimulans (Btm), Szenename: Ecstasy

Dosierung: 1-1,5mg/kg, insgesamt 80-150mg, Wirkung 1-3 h

Metabolite: MDA

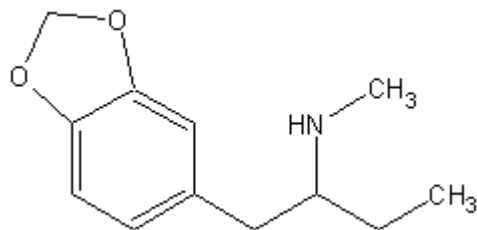
Forensisch-haaranalytischer Nachweis: Eine Dosis-Konzentrationsbeziehung zwischen Einnahmehäufigkeit von Ecstasy und ermittelter Wirkstoffkonzentration konnte durch COOPER et al. (2000) hergestellt werden. Keine Korrelation zwischen angegebener Ecstasy-Einnahme und Konzentration im Haar fanden IWERSEN-BERGMANN et al. (2000). Eine Methodvalidierung der Apparatekombination kapillarelektrophoretische ESI mit TOF-MS

und eine Bestimmung der Nachweisgrenze für MDMA $< 0,1\text{ng/mg}$ wurde von GOTTARDO et al. 2007 publiziert.

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,05-2,91ng/mg (Mittelwert 1,41), 28 Patienten (RÖHRICH et al. 1997)
- 0,1-8,3ng/mg, 20 Patienten (ROTHER et al. 1997)
- 0,1-82,9ng/mg (Mittelwert 4,6), 56 Patienten (COOPER et al. 2000)
- 0,06-5,6ng/mg, 39 Patienten (IWERSEN-BERGMANN et al. 2000)
- 0,15-12,51ng/mg, 7 Patienten (KIKURA et al. 1997)
- 0,117-6,44ng/mg, 12 Patienten (ALLEN et al. 2002)
- 0,5-12,4ng/mg, 20 Patienten (MUSSHOFF et al. 2002)
- 0,56-64,42ng/mg, 13 Patienten (SKENDER et al. 2002)

2.5.6.6 MDE



Substanzgruppe: synthetisches Amphetaminderivat

Anwendung: Psychostimulans (Btm), seltener als MDMA in Ecstasy

Dosierung: 1,3mg/kg (ca. 100mg bei 80kg Körpergewicht)

Metabolite: MDA

Literaturangaben zu Konzentrationsnachweisen im Haar:

- 0,80-3,70ng/mg (Mittelwert 1,48), 28 Patienten (RÖHRICH et al. 1997)
- 0,12-15ng/mg, 20 Patienten (ROTHER et al. 1997)
- 0,1-12,0ng/mg (Mittelwert 2,8), 56 Patienten (COOPER et al. 2000)

- 0,06-1,45ng/mg, 39 Patienten (IWERSEN-BERGMANN et al. 2000)
- 0,7-0,74ng/mg, 7 Patienten (KIKURA et al. 1997)
- 0,067-0,396ng/mg, 12 Patienten (ALLEN et al. 2002)
- 0,1-9,9ng/mg, 20 Patienten (MUSSHOFF et al. 2002)

2.6 Interne Standards

Als Interne Standards (ISTDs) wurden in dieser Arbeit deuterierten Substanzmoleküle verwendet. Es wurde eine konstante definierte Menge ISTD in jede untersuchte Probe gegeben.

Bei deuterierten Substanzen sind an definierten Positionen Wasserstoffionen durch ein Deuterium-Isotop ersetzt, d.h. sie unterscheiden sich von den Muttersubstanzen nur in ihrer Molekülmasse. In ihrem elektrochemischen Verhalten bleiben sie jedoch unverändert und haben somit die gleiche Retentionszeit. Sie werden in der Analytik häufig als Interne Standards benutzt, z.B. zur Detektion von Substanzen bei unklaren Retentionszeiten. Um Extraktionsverluste zu erkennen werden relative Integrationsflächen aus dem Verhältnis des identifizierten Substanzenvolumens zum identifizierten ISTD-Volumen berechnet. Dadurch werden eventuelle methodische Ungenauigkeiten (pipettieren, Einspritzvorgang im Analysegerät) ausgeglichen und haben somit keine Auswirkung auf die quantitativen Ergebnisse.

2.7 Funktionsweise des Flugzeitmassenspektrometers (LC-TOF MS)

Das LC-TOF ist ein Flugzeitmassenspektrometer von der Firma Agilent Technologies. Die grobe Unterteilung des Gerätes erfolgt in 4 Bereiche: 1) die Flüssigkeitschromatographie (HPLC) 2) die Ionenerzeugung (Elektrospray-Ionisation mit unterschiedlichem Flow) 3) die Ionentrennung (TOF) und 4) der Ionennachweis (Detektor). Die erzeugten Daten werden mit einer speziellen Software ausgewertet.

Auf der HPLC-Säule werden zunächst die Analyten nach Polarität aufgetrennt. Die Eluierung der polaren Substanzen von der Säule erfolgt zeitlich früher, da C18-Gruppen in der Säule elektrostatische Abstoßungskräfte erzeugen; unpolare Substanzen werden länger in der Säule

zurückgehalten. Es erfolgt hier eine Auftrennung des Multikomponentengemisches nach abnehmender Polarität. Die Säulenlaufzeit nennt man Retentionszeit. Im Anschluss an die Auftrennung der Analyte muss überschüssiger Analyt und vor allem das Lösungsmittel entfernt werden. In der Regel wird ca. 90 % der Lösung aus der Chromatographie entfernt und das verbliebene Material mit Elektrospray verdampft. Im Flugzeitmassenspektrometer werden die Ionen durch einen kurzen Spannungsstoß im feldfreien Raum beschleunigt und anhand der massenabhängigen Flugzeit (time of flight) ist die Detektion eines unbegrenzten Massenbereiches mit sehr guter Nachweisempfindlichkeit möglich. Die Ionen erreichen den Auffänger am Ende des Rohres in der Reihenfolge zunehmender Masse, d.h. leichtere Ionen kommen zuerst an. Beim TOF-MS wird die Feinmasse bis auf 4 Nachkommastellen bestimmt, dadurch ist keine Fragmentierung mehr nötig, wie z.B. mit MS-MS. Der im Apparat integrierte DAD (Dioden Array Detector) wurde zur Detektion nicht genutzt, nur das LC-TOF MS.

Das eingesetzte Laufmittel ist sauer, damit die Substanzen durch Protonierung eine positive Ladung erhalten und dann für die TOF-Messung durch Spannung beschleunigt werden können.

Eine Derivatisierung mit Propionsäureanhydrid verringert die Polarität der Substanzen, welche zum Teil propionyliert deutlich besser chromatographisch auftrennbar werden, also deutlichere Peaks zeigen (BLAU und HALKET 1994). Auch werden Elektronenaffinität und Flüchtigkeit von der Derivatisierung beeinflusst und eventuell die thermische oder hydrolytische Stabilität erhöht.

Die Identifizierung der Analyten erfolgt also anhand der Retentionszeit und der molekularen Feinmasse. Der Abgleich der Retentionszeit erfolgte mit deuterierten Standards (gleiche Laufzeit, andere Feinmasse).

Eine Identifizierung ausschließlich über die Feinmasse ist nicht ausreichend, da verschiedene Substanzen identische Feinmassen aufweisen können. Daher wurde zur Identifizierung die Retentionszeit in der Flüssigkeitschromatographie (Zeitfenster 0,2 min) als zweiter Parameter in der Auswertesoftware integriert.

3 Material

Im Folgenden sind die für Experimente verwendeten Chemikalien, das Untersuchungsmaterial und die benutzte Geräte aufgeführt.

3.1 Verwendete Chemikalien

Alle Substanzen wurden, soweit nicht anders angegeben, mit der höchsten im Handel befindlichen Reinheit verwendet.

3.1.1 Reagenzien

- DTE-Lösung (ICN Biomedicals, Eschwege) 1M- Dithiothreitol, 0,8g DTE in 5ml aqua ad iniectabilia gelöst (ICN Biomedicals)
- Proteinase K (PK) - Lösung (Merck, Darmstadt), 500mg PK in 25ml aqua ad iniectabilia gelöst
- Lyse-Mix: 10mM Tris (AppliChem, Darmstadt), 10mM EDTA (AppliChem, Darmstadt), 100mM NaCl (Roth GmbH und Co, Karlsruhe), 2% SDS (0,3g Tris, 0,9g EDTA, 1,5g NaCl und 5g SDS (AppliChem, Darmstadt) in 250ml aqua dest.), pH mit NaOH oder HCl auf 8,0 +/- 0,5
- Dimethylaminopyridin (DMAP, Schuchardt, Hohenbrunn)
- Isopropanolische Salzsäure (isoprop. HCl, Merck, Darmstadt)
- Propionsäure zur Synthese (Schuchardt, Hohenbrunn)
- Propionsäureanhydrid (PSA, Schuchardt, Hohenbrunn)
- Haar-ISTD, hergestellt aus käuflich erworbenen Lösungen (0,1mg/l oder 1mg/l) (PromoChem, Wesel)
0,5mg/l: THC-d3, 1mg/l: Cocain-d3, BE-d3, Amphetamin-d8, MDMA-d5, MDA-d5, Methamphetamin-d11, MDE-d6, Methylecgonin-d3, 6-MAM-d6, Morphin-d3, Ecgoninmethylester-d3, Codein-d6, Methadon-d9, Cocaethylen-d8, Dihydrocodein-d6 in Acetonitril
- Gesamt-ISTD, hergestellt aus käuflich erworbenen Lösungen (0,1mg/l oder 1mg/l) (PromoChem, Wesel)

Haar-ISTD + 1ng/μl: Doxepin-d3, Flunitrazepam-d7, Protryptilin-d3, Triazolam-d4, Diazepam-d5, Nordiazepam-d5, 7-Aminoflunitrazepam-d7, Oxazepam-d5, Triflupromazin

- Standard-Mix, hergestellt aus käuflich erworbenen Lösungen (0,1mg/l oder 1mg/l) (PromoChem, Wesel)

0,2mg/l: THC

0,5mg/l: Heroin, 6-MAM, Morphin, THC, Acetylcodein, Codein, Cocaethylen, Benzoylecgonin, Methylecgonin

1mg/l: Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDA, MDE, Cocain

- Substanzenmix aus 51 Substanzen, hergestellt wie in Abschnitt 4.1.3. beschrieben, aus käuflich erworbenen Lösungen (0,1mg/l oder 1mg/l) (PromoChem, Wesel) oder Einwaagen der Reinsubstanzen

0,5mg/l: 6-MAM, Morphin, Codein, Dihydrocodein, 6-Acetylcodein, Cocaethylen, Benzoylecgonin, Ecgoninmethylester, Heroin, Diazepam, Tramadol, Haloperidol, Olanzapin, Lorazepam, Benperidol, Risperidon, Perazin, Carbamazepin, Prothipendyl, Paroxetin, Levomepromazin, Venlafaxin, Promethazin, Mirtazapin, Flunitrazepam, Fluphenazin, Fluoxetin, Biperiden, Clozapin, Flupentixol, Valproinsäure, Quetiapin, Amitryptilin, Zolpidem, Chlorprothixen, Nordiazepam, Temazepam, Oxazepam, Midazolam, Bromazepam, 7-Amino-Flunitrazepam, Norflunitrazepam, Diphenhydramin, Doxylamin, Doxepin

1mg/l: Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDE, MDA, Cocain, Methadon

3.1.2 Lösungsmittel

- Methanol Reag. Ph Eur p.a. (JT Baker, Holland)
- Aceton (JT Baker, Holland)
- Acetonitril Ultra Gradient HPLC Grade (ACN, JT Baker, Holland)
- Petroleumbenzin reinst. (Merck, Darmstadt)
- Ameisensäure p.a. (FA, AppliChem, Darmstadt)
- H2O Baker HPLC Analysed (JT Baker, Holland)
- TOF- Laufmittel: ACN 80%, H2O 20%, FA 0,1%

3.2 Humanes Untersuchungsmaterial

Die untersuchte Matrix war menschliches Kopfhaar.

3.2.1 Leerhaare

Das verwendete Material war Eigenhaar und das Kopfhaar eines Kindes aus drogen- und medikamentenfreiem Umfeld.

3.2.2 Patientenhaare

Untersucht wurde das Kopfhaar von 40 Patienten der geschlossenen Station 93-13 der psychiatrischen Abteilung des Universitätsklinikums Frankfurt/M. Einschlusskriterium war die stationär kontrollierte Einnahme einer oder mehrerer der untersuchten Substanzen über einen Zeitraum von mindestens 20 Tagen. Die Patienten wurden über die Studie aufgeklärt und nach Unterschreiben einer schriftlichen Einverständniserklärung die Haarproben durch kopfhautnahes Abschneiden eines abgebundenen Haarstranges mit einer Schere gewonnen.

3.3 Verwendete Geräte

Es wurde das standardisierte Verbrauchsmaterial und die Apparaturen des forensisch-toxikologischen Institutes Frankfurt/M verwendet.

3.3.1 Verbrauchsmaterial

- Haarvials Plastik (Sarstedt, Nübrecht)
- GC-Gläschen 10ml (Merck, Langen)
- GC-Gläschen 20ml (Merck, Langen)
- Verschlusskappen Gummi (Macherey-Nagel, Düren)
- TOF-Vials (AZ Analytikzubehör Langen)
- Einmalkanülen gelb Neobject® (Dispomed Witt oHG Gelnhausen)
- Einmalkanülen grün Neobject® (Dispomed Witt oHG Gelnhausen)
- Einmalspritzen Inject® 5ml (Braun, Melsungen)
- Filter (Whatman GmbH Dassel)
- Bördelkappen groß (Pharmafix, WICOM GmbH, Maienfeld)

- Bördelkappen klein (Pharmafix, WICOM GmbH, Maienfeld)
- Pipettenspitzen gelb (Sarstedt, Nübrecht)
- Pipettenspitzen weiß (Sarstedt, Nübrecht)
- Alufolie (handelsübliche Ausführung)
- Schnur ca. 15cm lang (handelsübliche Ausführung)

3.3.2 Laborgeräte

- Ultraschallbad 100% Ultra Sound-Power (Transsonic digital S, Elma)
- Waage (Mettler AT 201)
- Trockenschrank 80°C (Heraeus)
- Abdampfblock TurboVap LV Evaporator 25°C
- Heizblockrüttler 60°C (Liebisch, Bielefeld)
- Kühlschrank Economic froster -20°C (Bosch)
- Pipette automatisch (Eppendorf Research pro, kalibriert nach DIN 8655)
- Pipette 10-100µl (Eppendorf, kalibriert nach DIN 8655)
- Pipette 100-1000µl (Eppendorf, kalibriert nach DIN 8655)
- Pipette 5000µl (Eppendorf, kalibriert nach DIN 8655)
- Eppendorf-Pipette (Eppendorf Reference autoclavable, kalibriert nach DIN 8655)
- Messpipette (Brand GmbH und Co KG, Wertheim)
- Pipette Hamilton 10µl (Bonaduz, Schweiz)
- Pipette Hamilton 25µl (Bonaduz, Schweiz)
- Pipette Hamilton 50µl (Bonaduz, Schweiz)
- Vortex-Gerät Heidolph REAX top (Merck, Darmstadt)
- Zubördelgerät Abimed (Agilent Technologies, USA)
- Entbördelgerät (Fermpress, Schweiz)
- Schere zur Haarentnahme (handelsübliche Haarschneideschere)
- LC-TOF MS 6210 (Agilent Technologies, USA)

4 Methoden

Im Folgenden werden verwendete Verfahren, durchgeführte Versuche und benutzte Auswertemethoden dargestellt.

4.1 Verwendete Verfahren

Für nachfolgende Verfahren wird eine Beschreibung gegeben: Haarentnahme, Analyse der Leerhaare, Ansetzen eines Substanzenmixes, Haaraufarbeitung und methanolische Extraktion, Dotieren der Leerhaare, Einstellungen am LC-TOF MS und die Begutachtung der Qualität der Rohdaten.

4.1.1 Haarentnahme am Patienten

Es wurden Kopfhaare von stationären Patienten des Zentrums für Psychiatrie Frankfurt/M innerhalb eines Gesamtzeitraums von ca. 1 Jahr entnommen. Die Auswahl der für die Studie geeigneten Patienten wurde in Absprache mit dem behandelnden Stationsarzt getroffen, sie erfolgte unter Einbeziehung der aktuellen Medikation und der geistigen Verfassung des Patienten. Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie waren einerseits die Verständnis- und Einwilligungsfähigkeit und andererseits die stationär kontrollierte Medikamenteneinnahme einer oder mehrerer der untersuchten Substanzen über einen Zeitraum von mindestens 3 Wochen. Es erfolgte ein Aufklärungsgespräch gemeinsam mit dem betreuenden Arzt unter Vorlage eines schriftlichen Probandeninformationsblattes. Unterzeichnete der Patient die Einverständniserklärung, so wurde die Haarentnahme zweier Strähnen unterschiedlicher Lokalisationen durchgeführt. Die Proben wurden dicht an der Kopfhaut abgeschnitten, der haarbodennahe Bereich gekennzeichnet, der Strang in Aluminiumfolie verpackt und mit dem Patientencode versehen. Eine eventuell erfolgte Behandlung der Haare mit Bleichmitteln, Färbungen oder Haarkosmetika wie z.B. Haargel wurde erfragt und notiert. Anschließend wurde die aktuelle Medikation und, falls vorhanden, auch Behandlungspläne der zurückliegenden Monate erfasst und die Probe anonymisiert mit einem entsprechenden Code versehen. Einmalige Medikamentenverordnungen oder Suizidversuche mit Psychopharmaka wurden im Protokoll gesondert vermerkt. Sämtliche patientenbezogenen Daten wurden anonymisiert weiterverarbeitet.

4.1.2 Analyse der Leerhaare

Die Leerhaare stammen von drogen- und medikamentenfreien Spendern, z.B. Kindern, waren eigene Haare oder Haare von Labormitarbeitern. Sie wurden gewaschen, geschnitten und im geschlossenen Behälter verwahrt. Bevor die Leerhaare für Versuche verwendet wurden, erfolgte eine Überprüfung auf Drogen- und Medikamentenfreiheit, um eine Kontamination und Verfälschung der quantitativen Auswertung auszuschließen.

4.1.3 Ansetzen eines Substanzenmix

Um die Zugabe einer möglichst konstant bleibenden Konzentration aller Substanzen beim Aufarbeiten der Analysesequenzen zu gewährleisten, wurden einmalig 51 verschiedene definierte Lösungen von Betäubungsmitteln, Medikamenten und deren Metabolite zusammen pipettiert (siehe Substanzenmix 3.1.1). So ergab sich ein Substanzgemisch mit dem Vorteil eines definierten Anteils jeder Substanz. Durch die Herstellung verschiedener Verdünnungen der Ausgangslösung wurden die zu pipettierenden Mengen optimiert und zu geringe Pipettiermengen vermieden.

Es wurden 20ml einer Lösung von 51 verschiedenen Substanzen in Methanol hergestellt. Die meisten Substanzen sind darin in einer Konzentration von 0,5ng/μl enthalten. Amphetamin, Cocain, MDA, MDE, MDMA, Methadon und Methamphetamin sind in einer Konzentration von 1 ng/μl enthalten. Eine 1:10 verdünnte Lösung enthält entsprechend 0,05 ng/μl bzw. 0,1 ng/μl der Substanzen.

Bsp.: Das Versetzen einer Leerhaarprobe mit z.B. 10μl der Stammlösung entspricht somit einer Konzentration von 0,1ng/mg bzw. 0,2ng/mg.

4.1.4 Herstellung von Standard-Lösungen

Für den Vorversuch 4.2 wurden Standard-Lösungen in hoher (Standard High) und niedriger Konzentration (Standard Low) hergestellt. Standard Low besteht aus 50μl des unter 3.1.1 beschriebenen Standard-Mix + 5ng Diazepam + 10ng Tramadol. Standard High besteht aus 200μl Standard-Mix + 10ng Diazepam + 200ng Tramadol.

4.1.5 Haaraufarbeitung und methanolische Extraktion nach KAUERT und RÖHRICH (1997)

Die Extraktion mit Methanol im Ultraschallbad bietet den Vorteil, dass sämtliche Substanzen von Interesse aus dem Haar extrahiert werden. Durch das direkte Eindampfen des Extraktes ohne weitere Aufreinigungsschritte werden einerseits Verluste von Analyten vermieden, andererseits weisen die Extrakte eine hohe Matrixbelastung auf, die bei der Analyse mit GC-MS zu Störungen der Chromatographie führen können. Zu dem Haarextrakt wird vor dem Eindampfen des großen Volumenanteils Methanol, Propionsäure und Dimethylaminopyridin (DMAP) zugesetzt. Der Zusatz von Propionsäure vor dem Eindampfprozess bewirkt, dass basische Substanzen in dem sauren Milieu als Salze vorliegen und daher beim Eindampfen weniger flüchtig sind. Der Zusatz von Propionsäure macht sich also vor allem positiv bei der Bestimmung leicht flüchtiger Verbindungen, wie z.B. den Amphetaminen, bemerkbar. Der Zusatz von (DMAP) dient als Katalysator für die anschließende Derivatisierung. Nach dem Eindampfen wird Propionsäureanhydrid (PSA) zur Propionylierung der zu bestimmenden Substanzen zugesetzt.

Die Propionylierung macht die Substanzen unpolarer und verändert ihre chemische Struktur, somit also auch die chromatographischen Eigenschaften. Diese Methode wird im Frankfurter Institut für Forensische Toxikologie als Standardmethode zur Bestimmung von Betäubungsmitteln in den Haaren eingesetzt

Zunächst war geplant, auch die zentralwirksamen Arzneimittel mit dem bereits etablierten Verfahren nachzuweisen. Vorversuche zeigten jedoch, dass die Propionylierung sich negativ auf den Nachweis einiger zentral wirksamer Substanzen auswirkte. Um das Verfahren zur Bestimmung von zentral wirksamen Arzneimitteln kombinierbar mit dem Standardverfahren zur Untersuchung auf Btm zu machen wurde geprüft, ob die underivatisierten zentral wirksamen Arzneimittel nach Eindampfen (mit Propionsäure und DMAP) bestimmbar sind, um im Nachgang eine Derivatisierung für die Btm mit PSA durchzuführen. Da jedoch möglicherweise bereits der Zusatz von DMAP die Bestimmung stören könnte, wurde der Haarextrakt ausschließlich mit isopropanolischer HCl (isoprop. HCl) eingedampft, die den gleichen Effekt hat wie die Propionsäure.

Ablauf:

1. Bestimmung von Farbe und Länge, Berechnung und Abtrennung der gewünschten Haarabschnitte, Einfüllen der Haare in Plastikröhrchen
2. Nacheinander jeweils 1-minütiger Waschvorgang mit Wasser, Aceton und Petroleumbenzin am Vortex-Gerät, Waschflüssigkeit wird jeweils verworfen
3. Einwaage von ca. 50mg Probenmaterial, 1x 30mg Positivhaare und 1x 50mg Leerhaare in verschiedene 20ml-GC-Gläschen, Beschriftung
4. Zerkleinern der Haarproben mit Haarschere im Gläschen
5. Zugabe der Substanzen in gewünschter Konzentration + 100µl ISTD in alle GC-Gläschen
6. Zugabe von 4ml Methanol und Verschluss der GC-Gläschen mit Bördelkappen
7. Ultraschallbad der verschlossenen GC-Gläschen für 5 Stunden
8. Vorbereitung von 10ml-Vials mit 50µl isopropanolische HCl (alternativ 25µl DMAP + 50µl Propionsäure falls Propionylierung erfolgen soll)
9. Gründliches Schütteln der Extrakte in den GC-Gläschen, danach vollständige Aufnahme der Extrakte mit langen Kanülen in je eine Spritze, Spülung der GC-Gläschen mit 1ml Methanol und Aspiration der Spülflüssigkeit in die jeweils gleiche Spritze
10. Ausspritzen der Extrakte (zuzüglich Spülflüssigkeit) durch Filter in die gemäß Punkt 8 mit isoprop. HCl oder Propionsäure/DMAP präparierten 10ml-Vials
11. Eindampfen
12. Abtrennung der zur Derivatisierung vorgesehenen Proben, nur bei diesen Vials Zugabe von 50µl PSA und Inkubation für 1h im Trockenschrank bei 80°C, danach Eindampfen des Extraktes (gesamter Punkt 12 nur bei Derivatisierung)
13. Lösung der Rückstandes mit 50µl TOF-Laufmittel unter wiederholter Aspiration mit der Pipette, Umfüllung des Materials in kleine TOF-Vials
14. Verschluss der Vials mit Bördelkappen

4.1.6 Dotieren von Leerhaaren

Für quantitative Messungen von Drogen/Medikamenten in Haaren stehen als Kalibratoren oder Standards keine Haare mit definierten Gehalten der verschiedenen Substanzen zur

Verfügung. Es wurde ersatzweise Leerhaar wie unter 4.1.2 beschrieben aufbereitet und mit den gewünschten Substanzmengen versetzt. Das Leerhaar soll bei der Analyse und Erstellung der Kalibrationsgeraden die Matrixbelastung und die Bindungskapazität der Haare für die Analyte bestmöglich simulieren. Anschließend wird das präparierte Leerhaar wie alle Patientenhaarproben methanolisch extrahiert und für die LC-TOF-Untersuchung aufbereitet (siehe 4.1.5). Sowohl das Leerhaar, als auch die zugegebenen Fremdstoffe erfahren so die gleiche Behandlung wie jede Patientenhaarprobe, mit dem Unterschied, dass die Substanzen von Anfang an gelöst vorliegen und nicht an die Haarstruktur gebunden sind. Mit jeder Analysesequenz wird auch eine Leerhaarprobe aufgearbeitet, um mögliche Verschleppungen, die Reinheit der verwendeten deuterierten Standards, sowie Artefakte aus der Aufarbeitung feststellen zu können.

4.1.7 Einstellungen am LC-TOF MS

Die Methodenbedingungen sind stabil zu halten, um die Konstanz der Retentionszeiten zu gewährleisten.

Einstellungen am LC-TOF:

- Flow: 0,4ml/min
- Gradient
Minute 0-1 2% B
Minute 1-7 auf 100% B hoch
Minute 7-9 spülen auf 100%
Minute 9-10 2%
- Fließmittel: a) H₂O + 0,1% FA (Ameisensäure) zum Spülen
b) 100% ACN (0,1% Ameisensäure)
- Säule: Agilent Zorbax SB-C18_kurz, 2,1x50mm (Innendurchmesser x Länge), 1,8 Micron
- Säulentemperatur: 50°C
- Referenzmasse: 11 : 10µM Purin/ 2µM HP
- nur mit TOF gemessen, ohne DAD (Dioden Array Detector)

4.1.8 Begutachtung der Qualität der Rohdaten

Vorraussetzung für die Auswertbarkeit gewonnener Datensequenzen ist der störungsfreie Ablauf der Analyse. Die deuterierten Standards müssen identifiziert werden können, der Leerwert muss frei von Drogen und Medikamenten sein.

4.2 Vorversuch

Extraktionsvergleich Proteinkinase versus Methanol

Um das zeit- und personalaufwändige Schneiden der Haare zu ersetzen, wurden Versuche zur enzymatischen Auflösung der Haarstruktur mit Proteinkinase K durchgeführt. Bei der Lysebehandlung der Haare wurde nach SOP (laborinterne Standardarbeitsanweisung) der DNA-Analyse (DNA-Extraktion aus Spurenmaterial) gearbeitet, wobei aufgrund der größeren Haarmengen 3fach höhere Enzymkonzentrationen als angegeben zugesetzt wurden. Als Kontrolle wurde die in 4.1.5 ausführlich beschriebene Methanolextraktion gewählt.

Durchführung: Je 50mg Haar wurden mit einem Low und einem High Standard (vgl. 4.1.4) versetzt und anschließend einer Lyse-Behandlung unterzogen wie folgt: Zugabe von 500µl Lysemix + 60µl Proteinkinase + 60µl Dithiothreitol und Inkubation über Nacht bei 50°C im Heizschrank. Die Methanolextraktion der Kontrollproben erfolgte wie unter 4.1.5 beschrieben.

4.3 Versuche

Alle Messungen am LC-TOF MS wurden mit der unter 4.1.7 erläuterten Methode durchgeführt.

Im Folgenden findet sich eine Beschreibung der verschiedenen Versuche, Auswertungsschritte und der Auswertungsmethoden. Es wird die Bestimmung der Retentionszeiten für die verwendete Methode, die manuelle Identifizierung von Substanzen, der MFE-Algorithmus, die Quantifizierung im Analyst und die Validierung mit Valistat erklärt.

4.3.1 Vergleich underivatisierter und propionylierter Haarextrakte

Im Folgenden werden Versuche zu Haaraufarbeitungen mit Reinsubstanzen beschrieben, die underivatisiert mit Zusatz von isopropanolischer Salzsäure, DMAP + Propionsäure oder zum Vergleich nach Derivatisierung mit Propionsäureanhydrid durchgeführt wurden.

4.3.1.1 Reinsubstanzen

Vor der Bestimmung des Bereiches, in dem Leerhaare mit verschiedenen Substanzkonzentrationen dotiert werden sollten, wurde zunächst ein Vorversuch durchgeführt. Bei diesem wurde ein sehr breiter Konzentrationsbereich von Reinsubstanzen vermessen, um für die verschiedenen Substanzen zu prüfen, welche Messempfindlichkeit von der eingesetzten LC-TOF-Methode erwartet werden kann.

4.3.1.2 Bestimmung des Arbeitsbereichs mittels Valistat für underivatisierte und propionylierte Haarextrakte

Zur Ermittlung des Arbeitsbereiches wurde ebenfalls entsprechend den Richtlinien der Gesellschaft für Forensische und Toxikologische Chemie (GTFCh) verfahren (MUBHOFF et al. 1998) und die Auswertesoftware Valistat (SCHMITT et al.) eingesetzt. Der Arbeitsbereich wurde so gewählt, dass in den Voruntersuchungen ermittelte, gut nachweisbare Konzentrationen den mittleren Bereich bildeten. Es wurden 8 möglichst gleichmäßig über den Arbeitsbereich verteilte Konzentrationen (inklusive Leerwert) festgelegt und diese 8 Bestimmungen 6-fach ausgeführt. Die Ansätze wurde je einmal underivatisiert und propionyliert angesetzt, also 2 x 48 Ansätze. Die Konzentrationen waren 0,02ng/mg, 0,05ng/mg, 0,08ng/mg, 0,1ng/mg, 0,15ng/mg, 0,2ng/mg, 0,5ng/mg und 0,75ng/mg. Für einige Analyte, die weniger sensitiv erfasst werden (Amphetamin, Cocain, MDA, MDE, MDMA, Methadon und Methamphetamin) entsprechen die pipettierten Volumina einer doppelt so hohen Konzentration. Es wurde wie unter 4.1.6 beschrieben verfahren.

4.3.1.3 Bestimmung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze mittels Valistat für underivatisierte und propionylierte Haarextrakte

Entsprechend den gemachten Erfahrungen aus 4.3.1.1 wurden Leerhaare mit je 15 verschiedenen Konzentrationen des Substanzenmix (0,001 bis 1ng/mg Haar) wie unter 4.1.6 beschrieben dotiert. Für einige Analyte, die weniger sensitiv erfasst werden (Amphetamin,

Cocain, MDA, MDE, MDMA, Methadon und Methamphetamin) wurden doppelt so hohe Mengen Analyt eingesetzt. Die dotierten Haare wurden methanolisch extrahiert und sowohl underivatisiert, als auch in parallel durchgeführten Ansätzen derivatisiert vermessen. Die Ergebnisse wurden mit der Auswertesoftware Valistat im Hinblick auf die Ermittlung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze für jede einzelne Substanz ausgewertet.

4.3.2 Haarproben psychiatrischer Patienten

Es wurden Haarproben psychiatrischer Patienten untersucht, welche über einen längeren Zeitraum (mindestens 20 Tage) in einer geschlossenen Station untergebracht waren. Hintergrund für die Durchführung dieser Untersuchungen war, dass die Patienten dort unter kontrollierten Bedingungen ihre Medikation einnehmen. Auf diese Weise sollte ermittelt werden, ob die Konzentrationen von Psychopharmaka, die unter realen Bedingungen im Haar erreicht werden mittels der validierten Methode ausreichend sensitiv erfasst werden können. Weiterhin stellte sich die Frage, ob sich für einige Psychopharmaka Zusammenhänge zwischen aufgenommener Dosis und nachgewiesener Konzentration in den Haaren feststellen lassen.

Untersucht wurden 30-50mg Haar von insgesamt 40 Probanden. Die Haarentnahme erfolgte wie unter 4.1.1, die Haaraufarbeitung wie unter 4.1.5 beschrieben ohne Derivatisierung. Auch bei den Haarproben von Patienten wäre es wünschenswert gewesen den Ergebnissen der underivatisierten Untersuchung die Ergebnisse derivatisierter Extrakte gegenüberzustellen. Bei der Probengewinnung am Patienten musste jedoch sehr behutsam vorgegangen werden, viele Patienten hatten Sorge dass Ihnen eine zu große Menge von Haaren abgeschnitten wird und stimmten nur der Gewinnung einer einzelnen Strähne zu. Das Haarmaterial war daher insgesamt sehr knapp und reichte in der Regel nur für eine einzige Analyse. Bei der Basisvalidierung der Methode hatte sich gezeigt, dass einige Psychopharmaka in den propionylierten Extrakten nicht mehr aufgefunden werden konnten. Daher wurden die Extrakte der Patientenhaare underivatisiert untersucht. Einige Haarproben wurden in maximal 2 Segmente (Kennzeichnung mit a und b) geteilt, um z.B. Medikationswechsel in unterschiedlichen Abschnitten zu erfassen.

4.3.3 Einmaleinnahmen

Vor dem Hintergrund eines möglichen nachträglichen Nachweises einer einmaligen Verabreichung von K.O.-Mitteln an Opfern von Straftaten stellte sich insbesondere die Frage, ob die Methode ausreichend sensitiv für die Erfassung einer einmaligen Aufnahme einer Substanz sein würde. Die Haarproben von Patienten, die im untersuchten Zeitraum nur einmalig ein Medikament verabreicht bekamen oder solche mit Suizidversuchen oder Intoxikationen in der zeitnahen Anamnese waren daher von besonderem Interesse. Untersucht wurde das Haar von insgesamt 8 Probanden. Die Haarentnahme erfolgte wie unter 4.1.1, die Haaraufarbeitung wie unter 4.1.5 beschrieben ohne Derivatisierung.

4.3.4 Bestimmung der Retentionszeiten

Verschiedene Substanzen können eine identische Feinmasse aufweisen, so dass zur sicheren Identifizierung als zusätzliches Kriterium die Retentionszeit verwendet wird. Die Retentionszeiten der Reinsubstanzen wurden vor Beginn der Haaruntersuchungen bestimmt. Die Identifizierung der Reinsubstanzen erfolgte anhand ihrer spezifischen Feinmassen, sowie anhand der Retentionszeit der entsprechenden deuterierten Internen Standards (ISTDs). Da die bestimmten Zeiten nur bei identischen Bedingungen (Trennsäule, HPLC-Laufmittel, Flussrate) konstant sind, wurden die Bedingungen nicht mehr verändert. Sofern verfügbar, dienten als Interne Standards deuterierte Substanzmoleküle.

Lagen für weniger häufig eingesetzte Medikamente keine deuterierten ISTDs vor, wurde die Substanz im Einzellauf anhand eines deutlichen Peaks plus Feinmasse identifiziert und die Retentionszeit bestimmt.

Für die Auswertesoftware MFE wurden die Retentionszeiten in Listen eingetragen. Für die automatische Identifizierung wurde als Vorgabe eine Abweichung von der Retentionszeit bis 0,2 min toleriert.

4.3.5 Manuelle Identifizierung von Substanzen

Das für die manuelle Identifizierung von Substanzen benutzte Herstellerprogramm Analyst zeigt zunächst die Chromatographie des Massenspektrums mit allen in der Probe enthaltenen Massen. Aus diesem Massenspektrum kann die Feinmasse einer Substanz und ihrer ISTDs auch einzeln chromatographisch dargestellt werden (siehe Beispielchromatogramm im

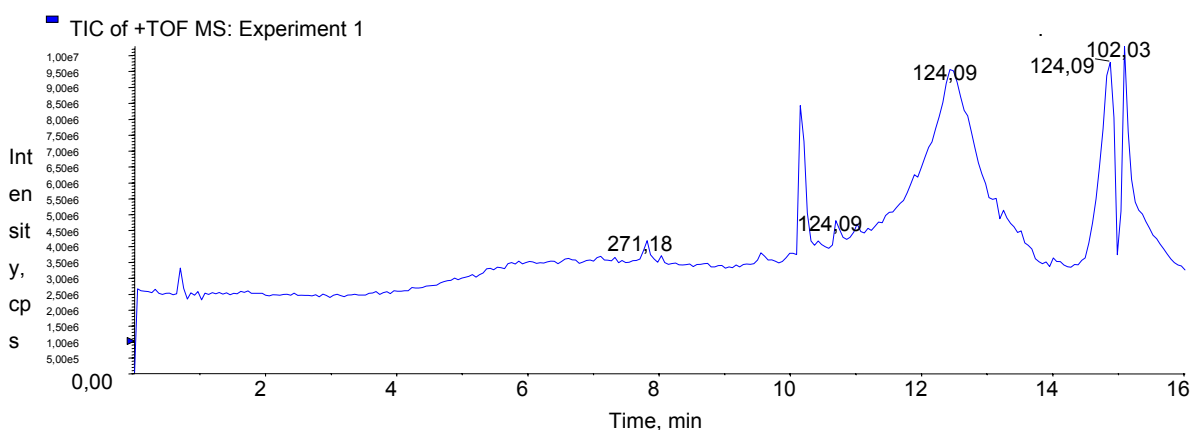
Anschluss). Aus der Feinmassenchromatographie wird dann der Peak zur richtigen Retentionszeit beurteilt. Dabei ist auf die eindeutige Prominenz gegenüber dem mittleren Grundliniensignal (Rauschen) und die Regelmäßigkeit des Signals ohne Überlagerung mit anderen Peaks zu achten. Außerdem ist das Vorhandensein von Ionenkromatographien wichtig.

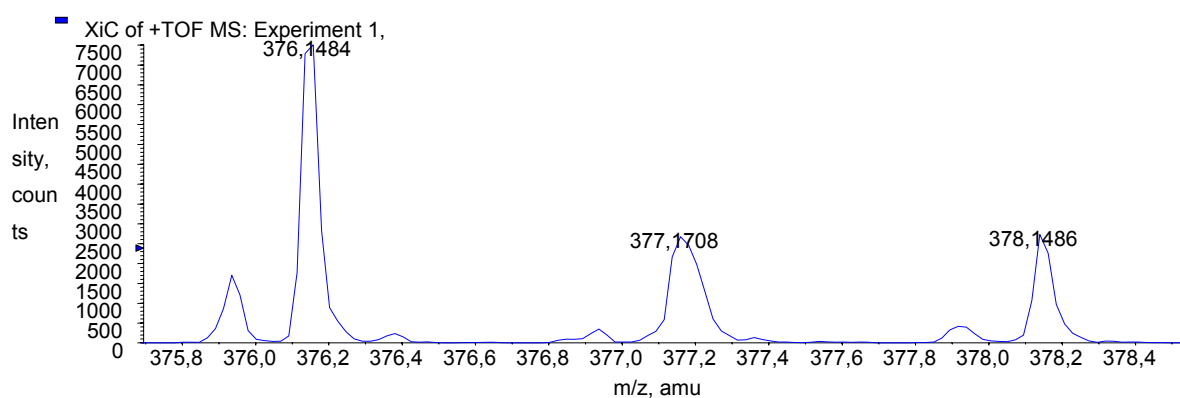
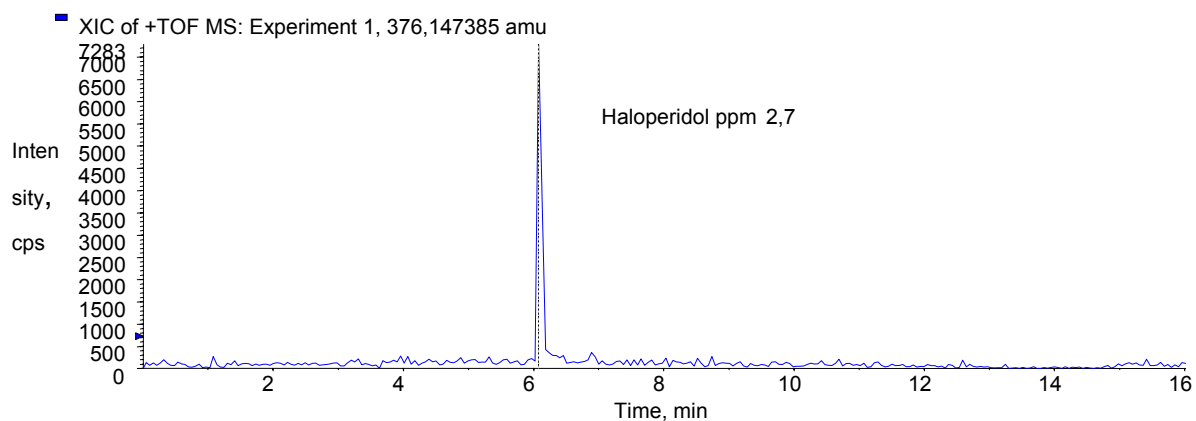
Das Signal des Internen Standards soll parallel zu dem der gesuchten Substanz verlaufen und die maximale Peakhöhe zur gleichen Retentionszeit aufweisen.

Identifikationskriterien:

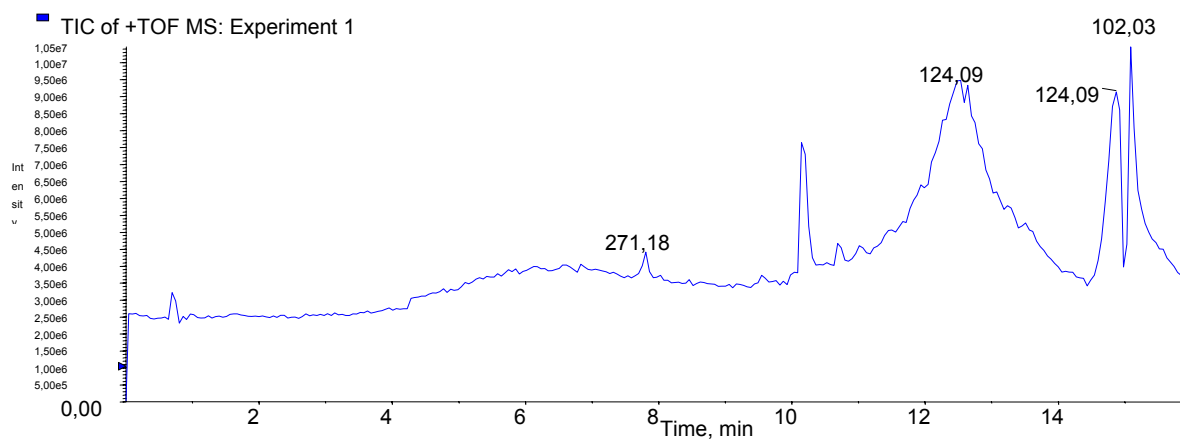
- Exakte Feinmasse (eine Abweichung von bis zu 10 ppm akzeptiert, liegt in der Regel zwischen 0 und 3 ppm)
- Retentionszeit ($\pm 0,2$ min)
- Deuterierte Substanzen müssen identische Retentionszeit und korrekte Feinmasse (ppm bis maximal 10) aufweisen
- Peakhöhe sollte das mittlere Grundliniensignal (Rauschen) um das Dreifache übersteigen (signal: noise $> 3:1$, Rauschen möglichst wenig counts)
- Intensity/Abundance sollte mindestens 1000 counts betragen
- Massenspektren (Ionenkromatographie der C13 Isotope: Na- und K-Addukte) sollten übereinstimmen

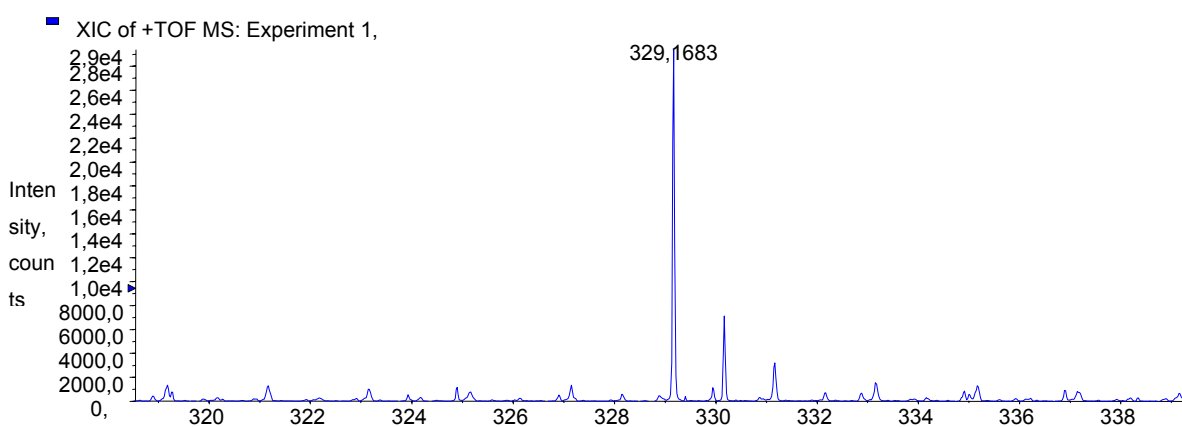
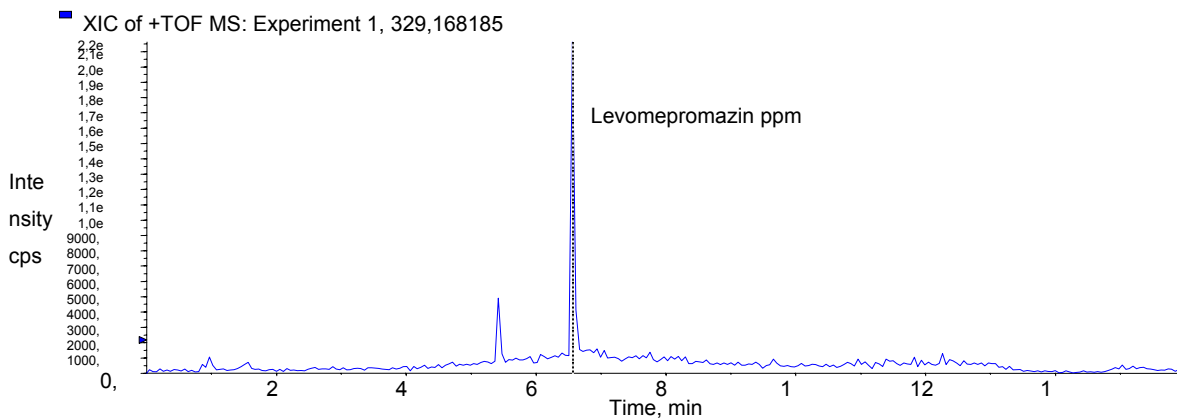
Beispielchromatogramm I: experimentell ermittelte Nachweisgrenze für Haloperidol
0,01ng/mg (ppm 2,7)



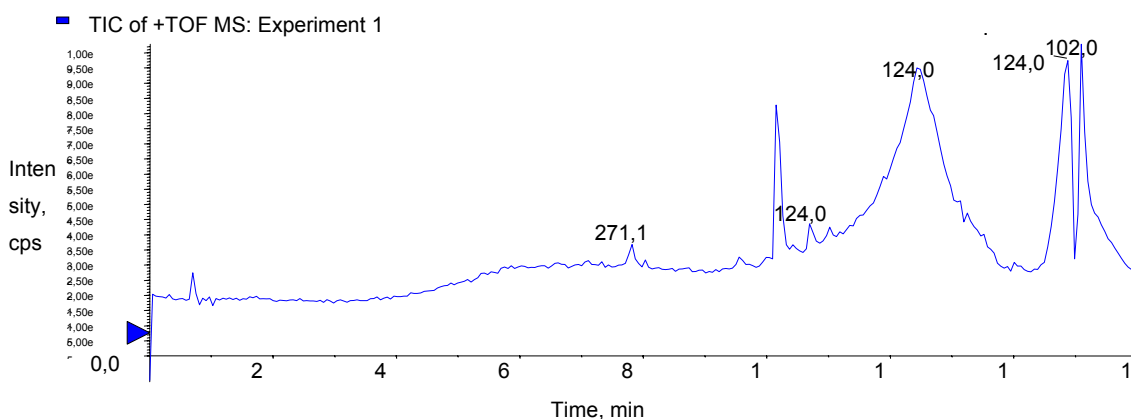


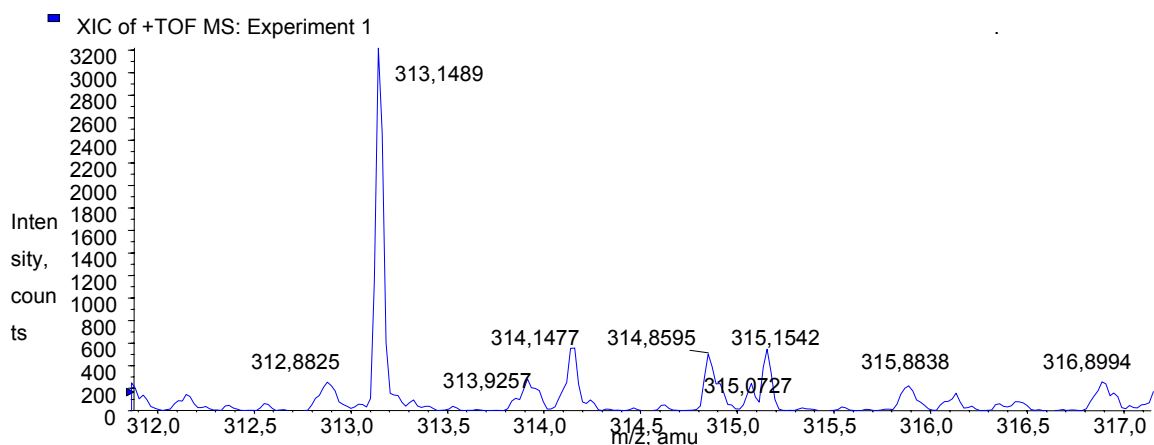
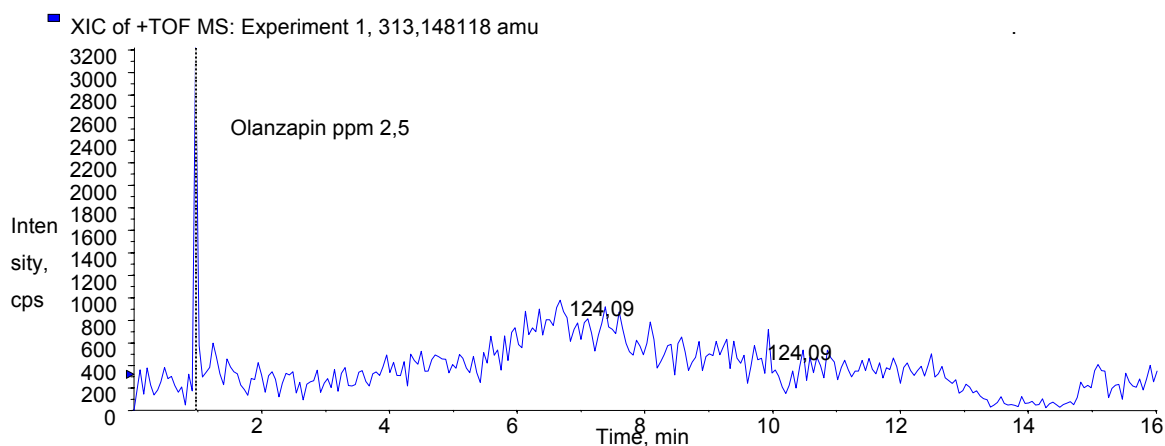
Beispielchromatogramm II: experimentell ermittelte Nachweisgrenze für Levomepromazin
0,02ng/mg (ppm 0,4)





Beispielchromatogramm III: experimentell ermittelte Nachweisgrenze für Olanzapin
0,01ng/mg (ppm 2,5)





4.3.6 MFE-Algorithmus

Für die Datenauswertung wurde parallel zu der manuellen Auswertung der vom Hersteller programmierte Dekonvolutionsalgorithmus MFE (Molecular Feature Extractor), integriert in der Masshunter-Software, eingesetzt. Vorbereitend wurde eine csv-Datei mit Summenformeln, Feinmassen und Retentionszeiten der gesuchten Substanzen und ihrer einfach oder mehrfach propionylierten Derivate erstellt. Der MFE-Algorithmus identifiziert die Peaks automatisch anhand ihrer Molekularmassen (Feinmassen) aus den komplexen Massenspektrographien des LC-TOF MS (Rohdaten, mhd-files). Die Molekularmassen errechnet das Programm aufgrund der Ionenkromatogramme von C13-Substanzisotopen, Natrium- und Kalium-Addukten. Es werden so zunächst die durch zugehörige Isotope als

Substanzen in Frage kommenden Peaks herausgefiltert. Im Abgleich mit der csv-Datei konnten die identifizierten Peaks nun unter Berücksichtigung der Retentionszeiten und Internen Standards als Substanzen benannt werden.

In einem hausinternen weiterentwickelten Formatierungsprogramm (MFE-Quant, Tönnies 2006) wurden die vom MFE-Algorithmus erstellten Daten (html-files) ausgelesen, visualisiert und übersichtlich dargestellt. Anhand der Peakintensität, welche in „volume“ ausgedrückt wird, lassen sich mit diesem Programm auch quantitative Auswertungen durchführen.

Es soll überprüft werden, ob die automatische Auswertung qualitativ vergleichbare Ergebnisse zur manuellen Auswertung erreicht.

4.3.7 Quantifizierung im Analyst

Die Quantifizierung erfolgte über eine lineare Regression der bekannten Konzentrationen der Kalibrationsproben und das Integral des Messsignals. Zum Ausgleich von geringen Pipettiergenauigkeiten oder Extraktionsverlusten empfiehlt es sich, das Verhältnis von Analyt-Area und ISTD-Area für die Kalibration zu benutzen. Analyst integriert eigenständig anhand der Molekülmassen (1 Nachkommastelle) und erstellt eine Kalibrationsgerade. Auf dieser Basis wird eine Bestgerade geschätzt (Steigung und y-Abschnitt) und ein Maß der Abweichung der einzelnen Datenpunkte von der idealen Geraden berechnet. Dieses Maß wird als Regressionskoeffizient R^2 angegeben. Die Wurzel aus R^2 wird als Regressionskoeffizient R bezeichnet. Zur Quantifizierung soll der Regressionskoeffizient $R > 0,997$ sein.

4.3.8 Validierung mit Valistat nach GTFCh-Richtlinien

In den Richtlinien der Fachgesellschaft GTFCh (MUBHOFF et al. 1998, in Kraft seit November 2004) werden unter Bezugnahme auf die DIN EN ISO/IEC 17025 Qualitätsstandards bezüglich Laborausstattung, Gerätepflege, Hygiene, Haarentnahme, Lagerung der Proben, Haaraufarbeitung, Methodvalidierung und Auswertekriterien festgelegt. Wie bereits unter 2.4 ausgeführt sind in einer Richtlinie der GTFCh Mindestanforderungen für die Validierung einer Methode zur quantitativen Bestimmung von Analyten in den Haaren beschrieben:

- Bestimmung des Arbeitsbereiches: mindestens 5 Kalibrationskonzentrationen und 6 Wiederholungen der Testreihe

- Bestimmung der Wiederholpräzision: über 5 Tage mit relativer Standardabweichung RSD < 15% (an der Bestimmungsgrenze maximal 20% noch akzeptabel)
- Lösemittelkalibration (zum Ausschluss signifikanter Unterschiede zur Matrixkalibration)
- auswertbare chromatographische Ergebnisse mit korrekten Retentionszeiten ($\pm 0,2$ min), richtige Feinmasse (bis ppm von 10), eindeutiger Peak (signal: noise > 3)
- Interne Standards als Qualitätsindikator der chromatographischen Darstellung und zum Ausgleich methodischer Ungenauigkeiten in der quantitativen Auswertung
- keine Ausreisser und Straggler nach Grubbs
- Linearität (Mandel-Test) und Varianzenhomogenität (F-Test) auf 99% Signifikanz-Niveau
- Bestimmungs- und Nachweisgrenzenberechnung anhand einer einzelnen Konzentrations-Sequenz, welche linear und ohne Ausreisser und Straggler sein muss

5 Ergebnisse

Nachfolgend werden die Resultate der Haaranalysen im Rahmen der Methodenoptimierung und Validierung der Methode und der klinischen Studie dargestellt. Aufgeführt sind auch die Auswertungen mit verschiedenen Auswerteprogrammen.

5.1 Extraktionsvergleich: Verdauung der Haare mit Proteinkinase versus Methanolextraktion unbehandelter Haare

Der Versuch mit Verdauung der Haarproben erfolgte, um das zeit- und personalaufwändige Schneiden der Haare zu ersetzen und zum Vergleich, ob bei einer vollständigen Zerstörung der Haarstruktur durch Enzyme sich mehr Fremdstoffe aus dem Haar lösen lassen als durch methanolische Extraktion. Es wurden Haare unterschiedlicher Längen und Mengen mit Proteinkinase inkubiert wie unter 4.2 beschrieben. Es zeigte sich jedoch, dass trotz langer Inkubationszeiten, Enzymmengen bis 60µl und anschließender Behandlung im Ultraschallbad eine vollständige Lyse selbst geringer Haarmengen kaum zu erreichen war. Im besten Fall war makroskopisch keine Haarstruktur mehr zu erkennen, die Flüssigkeit war jedoch trüb und somit für eine direkte Untersuchung durch das TOF-MS ungeeignet. Es erfolgte daher keine Analyse der mit Proteinkinase K versetzten Proben.

Die methanolische Extraktion der Vergleichsproben erfolgte wie unter 4.1.5 und 4.1.6 beschrieben, es wurde mit DMAP und Propionsäure derivatisiert. Die Untersuchung durch das TOF-MS ergab eine eindeutige Identifikation der zugegebenen Substanzen und ihrer deuterierten ISTDs.

Da Proteinase K die Haarstruktur in diesem Versuch nur unvollständig auflösen konnte, bot die enzymatische Inkubation keine Alternative zur etablierten methanolischen Extraktion nach KAUERT und RÖHRICH (1997).

5.2 Vergleich underivatisierter und derivatisierter Haarextrakte

Bei gaschromatographischen Untersuchungen ist eine Derivatisierung für eine exakte chromatographische Auftrennung und sensitive Erfassung der Analyten unerlässlich. Da die Auftrennung bei den durchgeführten Untersuchungen flüssigkeitschromatographisch erfolgte, erschien eine Derivatisierung zunächst nicht zwingend erforderlich. Vor der Untersuchung

von Patientenhaaren und Bestimmung von Arbeitsbereich, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden zunächst Vergleichsmessungen underivatisierter Reinsubstanzen in unterschiedlichen Säuren und propionylierter/unpropionylierter Analyte nach methanolischer Extraktion durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im Anschluss aufgeführt.

5.2.1 Abdampfen der Haarextrakte ohne Zusatz

Leerhaare wurden in 8 verschiedenen Konzentrationen, im Bereich von 0,02 bis 1ng/mg Haar dotiert, methanolisch extrahiert und die Haarextrakte ohne jeglichen Zusatz eingedampft und anschließend analysiert. Für einige Analyte, die weniger sensitiv erfasst werden, entsprechen die pipettierten Volumina Konzentrationen von 0,04 bis 2ng/mg.

Es wurden 47 Substanzen und ihre deuterierten Internen Standards eindeutig identifiziert. Die Auswertung wurde zunächst vom Softwareprogramm MFE durchgeführt, danach erfolgte die manuelle Kontrolle, um Fehler im praktisch relativ unerprobten Programm zu identifizieren.

Die Identifikation von Codein, Dihydrocodein und Methamphetamin gelang nicht in allen Konzentrationen aufgrund schlechter chromatographischer Auftrennung (zerrissene Peaks). Amphetamin konnte in keiner Konzentration nachgewiesen werden. Verbreiterte oder nicht ausreichend getrennte Peaks fanden sich auch bei MDA und MDE. Carbamazepin und Paroxetin wurden von MFE nicht erkannt, manuell jedoch eindeutig identifiziert.

Die Linearität, die beim Einsatz des Auswerteprogrammes Analyst erreicht wurde fiel substanzabhängig sehr unterschiedlich aus, es fallen aber gehäuft Abweichungen im oberen Konzentrationsbereich auf.

5.2.2 Abdampfen der Haarextrakte nach Zusatz von isopropanolischer Salzsäure

Leerhaare wurden in 8 verschiedenen Konzentrationen von 0,02 bis 1ng/mg Haar dotiert (siehe 4.1.6). Für einige Analyte entsprechen die pipettierten Volumina Haarkonzentrationen von 0,04 bis 2ng/mg. Der methanolische Haarextrakt wurde zur Vermeidung von Abdampfverlusten mit isopropanolischer Salzsäure versetzt und anschließend underivatisiert untersucht.

Es wurden alle 51 untersuchten Substanzen und die deuterierten Internen Standards in mittlerer Konzentration von 0,2 (bzw. 0,4)ng/mg eindeutig identifiziert.

Mittels manueller Integration wurden die Substanzen mit regulär konfigurierten Peaks bei richtigen Retentionszeiten und sehr geringen Feinmassenabweichungen von 0 bis 3 ppm identifiziert. Amphetamin, Codein und Dihydrocodein zeigten eine schlechte chromatographische Auftrennung, verbreitert waren die Peaks bei MDA, MDE, MDMA, Methamphetamin und Doxylamin. Die Substanzen wurden über den ganzen Konzentrationsbereich analysiert und konnten zumeist auch in den unteren Konzentrationen per Hand noch eindeutig identifiziert werden (siehe nachfolgende Tab. 1).

Tabelle 1: Manuelle Identifikation underivatisierter Substanzen von 0,02 bis 0,75ng/mg

Substanzen	0	0,02	0,05	0,08	0,10	0,15	0,20	0,50	0,75
6-Acetylcodein	-	+	+	+	+	+	+	+	+
7-Amino-Flunitrazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Amitriptylin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Amphetamin	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Benperidol	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Benzoylecgonin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Biperiden	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bromazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Carbamazepin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Chlorprothixen	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Clozapin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Cocaethylen	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Cocain	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Codein	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Diazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Dihydrocodein	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphenhydramin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Doxepin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Doxylamin	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Ecgoninmethylester	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Flunitrazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Fluoxetin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Flupentixol	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Fluphenazin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Haloperidol	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Heroin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Levomepromazin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Lorazepam	-	-	+	+	+	+	+	+	+
6-MAM	-	+	+	+	+	+	+	+	+
MDA	-	+	+	+	+	+	+	+	+
MDE	-	+	+	+	+	+	+	+	+
MDMA	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Methadon	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Methamphetamin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Midazolam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Mirtazapin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Morphin	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Nordiazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Norflunitrazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Olanzapin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxazepam	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Paroxetin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Perazin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Promethazin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Prothipendyl	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Quetiapin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Risperidon	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Temazepam	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Tramadol	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Venlafaxin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Zolpidem	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Das Quantifizierungsprogramm von Analyst (siehe 4.3.7) identifizierte alle Substanzen bis zur niedrigsten Konzentration von 0,02 bzw. 0,04ng/mg, wobei die berechnete Linearität substanzabhängig sehr unterschiedlich war (siehe nachfolgende Tab. 2). Die Linearität verbesserte sich zumeist, wenn die oberen Konzentrationen nicht mit einbezogen wurden.

Tabelle 2: Linearität über den gesamten Messbereich mit Analyst ohne Derivatisierung

gute Linearität >0,997	mäßige Linearität 0,992-0,997	schlechte Linearität <0,992	garnicht quantifiziert
6-Acetylcystein	Amitriptylin	Carbamazepin	Amphetamin
7-Amino-Flunitrazepam	Biperiden	Levomepromazin	Codein
Benperidol	Chlorprothixen	MDA	Dihydrocodein
Benzoylcgonin	Diphenhydramin	Midazolam	Doxepin
Clozapin	Fluoxetin	Perazin	Doxylamin
Cocaethylen	Fluphenazin	Prothipendyl	Ecgoninmethylester
Cocain	Methamphetamin	Temazepam	Norflunitrazepam
Diazepam	Morphin	Tramadol	
Flunitrazepam	Paroxetin		
Flupentixol	Lorazepam		
Heroin	Haloperidol		
MDE	Methadon		
MDMA	Quetiapin		
Mirtazapin	Olazapin		
Nordiazepam	6-MAM		
Promethazin	Bromazepam		
Risperidon	Oxazepam		
Venlafaxin			
Zolpidem			
gesamt: 19	gesamt: 17	gesamt: 8	gesamt: 7

5.2.3 Abdampfen der Haarextrakte nach Zusatz von Propionsäure und DMAP

Leerhaare wurden in 8 verschiedenen Konzentrationen wie unter 5.2.2. dotiert. Der methanolische Haarextrakt wurde zur Vermeidung von Abdampfverlusten mit Propionsäure und auch mit DMAP versetzt und anschließend underivatisiert untersucht.

Es wurden alle 51 untersuchten Substanzen und die deuterierten Internen Standards eindeutig identifiziert. Manuell wurden die Substanzen mit sauberen Peaks bei richtigen Retentionszeiten und sehr geringen Feinmassenabweichungen von 0 bis 3 ppm gefunden.

Amphetamin, Codein und Dihydrocodein zeigten erneut eine schlechte chromatographische Trennung, verbreitert waren die Peaks wieder bei Doxylamin, MDA, MDE, MDMA und Methamphetamin.

Die Substanzen wurden über den ganzen Konzentrationsbereich analysiert und konnten zumeist auch in den unteren Konzentrationen noch eindeutig identifiziert werden.

5.2.4 Abdampfen der Haarextrakte nach Zusatz von Propionsäure, DMAP und anschließender Derivatisierung (Propionylierung) mit PSA

Leerhaare wurden in 8 verschiedenen Konzentrationen, wie unter 5.2.2. dotiert. Der methanolische Haarextrakt wurde zur Vermeidung von Abdampfverlusten mit Propionsäure versetzt und auch mit DMAP und anschließend mit PSA derivatisiert.

Es konnten 4 der 51 Substanzen weder von MFE, noch mittels manueller Integration in mittlerer Konzentration von 0,2 (bzw. 0,4)ng/mg identifiziert werden (Bromazepam, MDA, Olanzapin, Promethazin). Die anderen Substanzen lagen entweder underivatisiert (N=24) oder propionyliert (N=23) vor (siehe Tab. 3). Morphin und Lorazepam lagen sowohl einfach, als auch zweifach propionyliert vor. Die Peaks von Amphetamin, Codein, Dihydrocodein und Methamphetamin waren bei Derivatisierung mit PSA eindeutig konfiguriert.

Tabelle 3: Nachweis im propionylierten Extrakt als unveränderte Reinsubstanz oder derivatisiert

Nicht propionyliert	1-prop	garnicht identifiziert
6-Acetylcodein	7-Aminoflunitrazepam	Bromazepam
Amitriptylin	Amphetamin	MDA
Benzoylecgonin	Benperidol	Olanzapin
Biperiden	Clozapin	Promethazin
Carbamazepin	Codein	
Chlorprothixen	Dihydrocodein	
Cocaethylen	Ecgoninmethylester	
Cocain	Fluoxetin	
Diazepam	Flupentixol	
Diphenhydramin	Fluphenazin	
Doxepin	Haloperidol	
Doxylamin	Lorazepam (+ 2-prop)	
Flunitrazepam	6-MAM	
Heroin	MDE	

Levomepromazin	MDMA	
Methadon	Methamphetamin	
Midazolam	Morphin (+ 2-prop)	
Mirtazapin	Oxazepam	
Nordiazepam	Paroxetin	
Norflunitrazepam	Quetiapin	
Perazin	Temazepam	
Prothipendyl	Tramadol	
Risperidon	Venlafaxin	
Zolpidem		
gesamt: 24	gesamt: 23	gesamt: 4

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass durch die Derivatisierung mit PSA vor allem die Chromatographie der Btm Codein, Dihydrocodein, 6-MAM, Amphetamin und Methamphetamin deutlich verbessert und somit die Nachweisempfindlichkeit erhöht wird. Da die Analyse der anderen untersuchten Psychopharmaka jedoch durch die Propionylierung stark an Qualität abnahm und 4 Substanzen sogar gar nicht mehr nachzuweisen waren, wurde diese Methode nicht zum Nachweis von Psychopharmaka in den Haaren eingesetzt. Im direkten Vergleich der Nachweisempfindlichkeit schnitten die underivatisierten Proben deutlich besser ab. Daher erfolgte die Analyse der Patientenhaare nur underivatisiert.

5.3 Identifizierung 51 verschiedener psychotroper Substanzen

Wie bereits unter 4.3.4 erläutert wurden die Retentionszeiten der Reinsubstanzen bestimmt und neben der Feinmasse als Identifikationskriterium verwendet. Die ermittelten Daten sind in der folgenden Tab. 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Identifikationsdaten der Substanzen

Substanzen	Retentionszeiten (min)	Feinmassen M+H (amu)
6-Acetylcodein	5,18	342,16996
7-Amino-Flunitrazepam	5,31	284,11934
Amitriptylin	6,10	278,19030
Amphetamin	2,52	136,11207
Benperidol	5,59	382,19251
Benzoylecgonin	4,96	290,13866
Biperiden	6,05	312,23216
Bromazepam	5,99	316,00797

Carbamazepin	6,29	237,10221
Chlorprothixen	6,25	316,09210
Clozapin	5,54	327,13707
Cocaethylen	5,54	318,16996
Cocain	5,28	304,15431
Codein	0,92	300,15939
Diazepam	7,00	285,07889
Dihydrocodein	0,91	302,17504
Diphenhydramin	5,77	256,16956
Doxepin	5,84	280,16956
Doxylamin	4,46	271,18046
Ecgoninmethylester	0,78	200,12809
Flunitrazepam	6,67	314,09352
Fluoxetin	6,18	310,14130
Flupentixol	6,36	435,17122
Fluphenazin	6,29	438,18212
Haloperidol	6,01	376,14739
Heroin	5,20	370,16487
Levomepromazin	6,70	329,16819
Lorazepam	6,50	321,01918
6-MAM	4,12	328,15431
MDA	3,11	180,10188
MDE	4,66	208,13318
MDMA	4,16	194,11753
Methadon	6,13	310,21651
Methamphetamin	3,05	150,12770
Midazolam	5,75	326,08545
Mirtazapin	4,99	266,16515
Morphin	0,91	286,14374
Nordiazepam	6,59	271,06324
Norflunitrazepam	6,38	300,07787
Olanzapin	0,99	313,14812
Oxazepam	6,42	287,05816
Paroxetin	5,96	330,14997
Perazin	5,90	340,18417
Promethazin	5,92	285,14197
Prothipendyl	5,78	286,13722
Quetiapin	5,70	384,17400
Risperidon	5,42	411,21905
Temazepam	6,73	301,07381
Tramadol	5,10	264,19578
Venlafaxin	5,48	278,21143
Zolpidem	5,40	308,17571

Es folgt eine tabellarische Darstellung der Identifikationsdaten der deuterierten Internen Standards (ISTDs).

Tabelle 5: Identifikationsdaten der Internen Standards

ISTDs	Retentionszeiten (min)	Feinmassen M+H (amu)
7-Amino-Flunitrazepam-D7	5,31	291,16328
Amphetamin-D8	2,52	144,16229
Benzoylecgonin-D3	4,96	293,15749
Cocaethylen-D8	5,54	326,22018
Cocain-D3	5,28	307,17314
Codein-D6	0,92	306,19706
Diazepam-D5	7,00	290,11028
Dihydrocodein-D6	0,91	308,21271
Doxepin-D3	5,84	283,1884
Ecgoninmethylester-D3	0,78	203,14693
Flunitrazepam-D7	6,67	321,13746
6-MAM-D6	4,12	334,19197
MDA-D5	3,11	185,13326
MDE-D6	4,66	214,17084
MDMA-D5	4,16	199,14891
Methadon-D9	6,13	319,27301
Methamphetamin-D11	3,05	161,19675
Morphin-D3	0,91	289,16258
Nordiazepam-D5	6,59	276,09463
Oxazepam-D5	6,42	292,08954

Es folgt eine tabellarische Darstellung der Identifikationsdaten propionylierter Substanzen nach Derivatisierung mit PSA.

Tabelle 6: Identifikationsdaten der propionylierten Substanzen

Derivatisierte Substanzen	Retentionszeiten (min)	Feinmassen (M+H) (amu)
7-Amino-Flunitrazepam-prop	6,05	340,145555
Amphetamin-prop	6,24	192,138289
Biperiden-prop	6,32	368,258379
Clozapin-prop	5,90	383,163289
Codein-prop	5,48	356,185609

Dihydrocodein-prop	5,38	358,201259
Ecgoninmethylester-prop	0,92	256,154309
Fluoxetin-prop	7,79	366,167513
Flupentixol-prop	6,64	491,197434
Fluphenazin-prop	6,59	494,208333
Haloperidol-prop	6,30	432,173600
Lorazepam-prop	7,20	377,045399
Lorazepam-2prop	8,00	433,071614
6-MAM-prop	5,50	384,180524
MDE-prop	6,92	264,159394
MDMA-prop	6,58	250,143744
Methamphetamin-prop	6,70	206,153914
Morphin-2prop	5,83	398,196174
Morphin-prop	8,05	342,169959
Oxazepam-prop	7,18	343,084371
Quetiapin-prop	6,22	440,200214
Paroxetin-prop	7,05	386,176187
Temazepam-prop	7,44	357,100021
Tramadol-prop	5,64	320,221994
Venlafaxin-prop	6,15	334,237644

Es folgt eine tabellarische Darstellung der Identifikationsdaten propionylierter Interner Standards (ISTDs) mit Aufarbeitung wie in Tab. 6.

Tabelle 7: Identifikationsdaten der propionylierten Internen Standards

Derivatisierte ISTDs	Retentionszeiten (min)	Feinmassen (M+H) (amu)
7-Aminoflunitrazepam-d7-prop	6,05	347,189494
Amphetamin-d8-prop	6,24	200,188505
Codein-d6-prop	5,48	362,223271
Dihydrocodein-d6-prop	5,38	364,238921
Ecgoninmethylester-d3-prop	0,92	259,173140
6-MAM-d6-prop	5,50	390,218186
MDA-d5-prop	6,14	241,159479
MDE-d6-prop	6,92	270,197056
MDMA-d5-prop	6,58	255,175129
Methamphetamin-d11-prop	6,70	217,222961
Morphin-d3-2prop	5,83	401,215005
Morphin-d3-prop	8,05	345,188790
Oxazepam-d5-prop	7,18	348,115756

5.4 Arbeitsbereich

Es wurden die Daten der Arbeitsbereiche (Versuch siehe 4.3.1.2) verwendet, sowohl für underivatisierte, als auch für derivatisierte Substanzen.

Die Ergebnisse der manuellen Auswertung der derivatisierten und underivatisierten Sequenzen sind unter 5.2 in Tab. 1-3 zu finden.

Die Ergebnisse der MFE-Auswertung der derivatisierten und underivatisierten Sequenzen sind unter 5.8.2.1 und 5.8.2.2 in Tab. 17 zu finden.

Wie unter 4.3.7 beschrieben, konnte mit dem Programm Analyst eine automatische Quantifizierung der Rohdaten durchgeführt werden. Die dadurch gewonnenen Daten waren Voraussetzung für die statistische Bewertung mittels Valistat. Mit dem Statistik-Programm Valistat wurden die 6-fach ermittelten Daten des Arbeitsbereichs auf Linearität (Mandel-Test) und statistische Fehler hin überprüft. Sämtliche Daten wurden auf Varianzenhomogenität (F-Test) auf 99% Signifikanzniveau überprüft, mittels Grubbs-Test wurden statistische Ausreisser und Straggler identifiziert und eine gewichtete und ungewichtete Regressionsgerade angelegt.

In der Quantifizierung der underivatisierten Sequenzen bestanden substanzenabhängig deutliche Unterschiede bezüglich der Linearität, letztendlich wurden aber die unter 4.3.8 aufgeführten Mindestanforderungen für Linearität bei 41 von 51 Wirkstoffen erfüllt. Für 7-Aminoflunitrazepam, Doxylamin, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, 6-MAM, Methamphetamin, Morphin, Olanzapin, Perazin und Zolpidem konnten nicht alle von Valistat geforderten Kriterien erfüllt werden, wobei die Ursache zumeist in nicht linearen Werten bei chromatographisch schlechten Peakformen lag. Der lineare Kalibrationsbereich erstreckt sich von mindestens 0,02ng/mg substanzenabhängig bis maximal 0,5ng/mg. Die Ergebnisse sind in Tab. 8 im Anschluss aufgeführt.

Tabelle 8: Arbeitsbereich underivatisierter Substanzen

Substanzen	linearer Kalibrationsbereich
6-Acetylcodein	0,02 - 0,1 ng/mg
7-Amino-Flunitrazepam	-
Amitriptylin	0,02 - 0,5 ng/mg

Amphetamin	0,04 - 0,4 ng/mg
Benperidol	0,02 - 0,15 ng/mg
Benzoylecgonin	0,02 - 0,1 ng/mg
Biperiden	0,02 - 0,2 ng/mg
Bromazepam	0,02 - 0,5 ng/mg
Carbamazepin	0,02 - 0,15 ng/mg
Chlorprothixen	0,05 - 0,2 ng/mg
Clozapin	0,05 - 0,2 ng/mg
Cocaethylen	0,08 - 0,2 ng/mg
Cocain	0,02 - 0,3 ng/mg
Codein	0,02 - 0,2 ng/mg
Diazepam	0,05 - 0,2 ng/mg
Dihydrocodein	0,02 - 0,2 ng/mg
Diphenhydramin	0,02 - 0,5 ng/mg
Doxepin	0,02 - 0,1 ng/mg
Doxylamin	-
Ecgoninmethylester	-
Flunitrazepam	0,02 - 0,2 ng/mg
Fluoxetin	0,02 - 0,5 ng/mg
Flupentixol	0,02 - 0,5 ng/mg
Fluphenazin	0,02 - 0,5 ng/mg
Haloperidol	0,02 - 0,5 ng/mg
Heroin	0,08 - 0,2 ng/mg
Levomepromazin	-
Lorazepam	0,02 - 0,1 ng/mg
6-MAM	-
MDA	0,10 - 0,3 ng/mg
MDE	0,04 - 0,2 ng/mg
MDMA	0,16 - 0,4 ng/mg
Methadon	0,04 - 1 ng/mg
Methamphetamin	-
Midazolam	0,02 - 0,2 ng/mg
Mirtazapin	0,02 - 0,1 ng/mg
Morphin	-
Nordiazepam	0,02 - 0,2 ng/mg
Norflunitrazepam	0,02 - 0,15 ng/mg
Olanzapin	-
Oxazepam	0,02 - 0,2 ng/mg
Paroxetin	0,02 - 0,15 ng/mg
Perazin	-
Promethazin	0,02 - 0,5 ng/mg
Prothipendyl	0,02 - 0,2 ng/mg
Quetiapin	0,02 - 0,5 ng/mg

Risperidon	0,02 - 0,5 ng/mg
Temazepam	0,02 - 0,15 ng/mg
Tramadol	0,02 - 0,15 ng/mg
Venlafaxin	0,02 - 0,2 ng/mg
Zolpidem	-

Von den derivatisierten Substanzen erfüllten 41 von 51 die von Valistat geforderten Kriterien (siehe 4.3.8). Insgesamt 10 Substanzen konnten aufgrund ihrer schlechten Nachweisbarkeit nach Derivatisierung quantitativ nicht ausgewertet werden. Vier davon (Bromazepam, MDA, Olanzapin und Promethazin) waren nach Derivatisierung auch manuell nicht mehr identifizierbar. Bei den 10 Substanzen Benperidol, Bromazepam, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, MDA, Norflunitrazepam, Olanzapin, Oxazepam, Perazin und Promethazin lag eine unzureichende Peaksymmetrie vor und sie wiesen keinen linearen Arbeitsbereich auf. Bei den übrigen Substanzen erstreckt sich der lineare Arbeitsbereich von mindestens 0,02ng/mg substanzenabhängig bis maximal 2ng/mg. Die Ergebnisse sind in Tab. 9 im Anschluss aufgeführt.

Tabelle 9: Arbeitsbereich propionylierter Substanzen

Substanzen	chemische Konfiguration	linearer Kalibrationsbereich
6-Acetylcodein		0,04 - 0,20 ng/mg
7-Aminoflunitrazepam	prop	0,02 - 0,75 ng/mg
Amitriptylin		0,04 - 0,20 ng/mg
Amphetamin	prop	0,08 - 0,25 ng/mg
Benperidol		-
Benzoylecgonin		0,10 - 0,50 ng/mg
Biperiden		0,02 - 0,50 ng/mg
Bromazepam		-
Carbamazepin		0,04 - 0,25 ng/mg
Chlorprothixen		0,02 - 0,75 ng/mg
Clozapin	prop	0,04 - 2,00 ng/mg
Cocaethylen		0,04 - 2,00 ng/mg
Cocain		0,04 - 0,50 ng/mg
Codein	prop	0,04 - 2,00 ng/mg
Diazepam		0,06 - 1,00 ng/mg
Dihydrocodein	prop	0,06 - 0,25 ng/mg
Diphenhydramin		0,04 - 0,20 ng/mg

Doxepin		0,06 - 0,20 ng/mg
Doxylamin		0,04 - 0,50 ng/mg
Ecgoninmethylester	prop	0,08 - 0,20 ng/mg
Flunitrazepam		0,02 - 0,20 ng/mg
Fluoxetin	prop	0,15 - 0,75 ng/mg
Flupentixol	prop	0,05 - 0,20 ng/mg
Fluphenazin	prop	0,04 - 1,00 ng/mg
Haloperidol	prop	0,06 - 0,25 ng/mg
Heroin		0,06 - 1,00 ng/mg
Levomepromazin		-
Lorazepam	prop	0,08 - 0,20 ng/mg
6-MAM	prop	0,08 - 0,20 ng/mg
MDA		-
MDE	prop	0,06 - 0,25 ng/mg
MDMA	prop	0,04 - 2,00 ng/mg
Methadon		0,06 - 0,25 ng/mg
Methamphetamin	prop	0,04 - 1,00 ng/mg
Midazolam		0,04 - 2,00 ng/mg
Mirtazapin		0,04 - 0,20 ng/mg
Morphin	2-prop	0,02 - 1,00 ng/mg
Nordiazepam		0,02 - 0,20 ng/mg
Norflunitrazepam		-
Olanzapin		-
Oxazepam		-
Paroxetin	prop	0,04 - 2,00 ng/mg
Perazin		-
Promethazin		-
Prothipendyl		0,04 - 1,00 ng/mg
Quetiapin	prop	0,02 - 0,50 ng/mg
Risperidon		0,04 - 1,00 ng/mg
Temazepam	prop	0,08 - 0,20 ng/mg
Tramadol	prop	0,06 - 0,20 ng/mg
Venlafaxin	prop	0,04 - 0,20 ng/mg
Zolpidem		0,04 - 0,20 ng/mg

5.5 Experimentelle Ermittlung der Nachweisgrenze

Durchführung wie unter 4.3.1.3 beschrieben.

Die experimentellen Nachweisgrenzen wurden nach den unter 4.3.5 angegebenen Kriterien mittels Handintegration bestimmt. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Tab.10 und unter 5.8.2.3 in Tab. 18 zu finden.

Amphetamin, Cocain, MDA, MDE, MDMA, Methadon und Methamphetamin waren, wie unter 4.1.3 und 4.3.1.3 beschrieben, dem Substanzenmix in höheren Konzentrationen zugesetzt, daher weichen die Nachweisgrenzen in Tab. 10 z.T. von der Staffelung für die anderen Substanzen ab (Bsp. Amphetamin, MDMA).

Tabelle 10: Experimentelle Nachweisgrenzen in ng/mg

Substanzen	0,08	0,05	0,025	0,02	0,015	0,01	0,009	0,008	0,007	0,006	0,005	0,004	0,003	0,002
6-Acetylcodein	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7-Amino-Flunitrazepam	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Amitriptylin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Amphetamin	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benperidol	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzoylcegonin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biperiden	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Bromazepam	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbamazepin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlorprothixen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Clozapin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Cocaethylen	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Cocain	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Codein	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Diazepam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Dihydrocodein	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Diphenhydramin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Doxepin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Doxylamin	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ecgoninmethylester	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Flunitrazepam	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluoxetin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Flupentixol	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluphenazin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Haloperidol	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Heroin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Levomepromazin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lorazepam	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-MAM	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
MDA	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MDE	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

MDMA	+	+	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methadon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Methamphetamin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Midazolam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Mirtazapin	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Morphin	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nordiazepam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Norflunitrazepam	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Olanzapin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxazepam	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Paroxetin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Perazin	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Promethazin	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prothipendyl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Quetiapin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Risperidon	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Temazepam	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tramadol	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Venlafaxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Zolpidem	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Die niedrigsten experimentellen Nachweisgrenzen ohne Derivatisierung fanden sich für Amitriptylin, Chlorprothixen, Diazepam, Doxepin, Methadon, Midazolam, Mirtazapin, Nordiazepam, Prothipendyl und Venlafaxin mit Werten zwischen 0,004 bis 0,009ng/mg. Die höchsten Werte wiesen Amphetamin, Doxylamin, MDMA und Morphin auf mit 0,04-0,1ng/mg. Die restlichen 37 Substanzen waren alle bis in den Bereich von 0,01 bis 0,025ng/mg nachweisbar.

Die ermittelten Nachweisgrenzen gemäß den GTFCh-Richtlinien sind unter 5.6 in Tab.11 aufgeführt.

5.6 Bestimmungs- und Nachweisgrenzen ermittelt mit Valistat

Die automatische Quantifizierung in Analyst und die Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mit Valistat wurden wie unter 4.3.1.3, 4.3.7 und 4.3.8 erläutert durchgeführt. Die Sequenz musste linear und ohne Ausreisser und Straggler sein, damit Valistat die gewünschten Grenzwerte errechnen konnte.

Die Bestimmungs- und Nachweisgrenzen wurden für derivatisierte und underivatisierte Substanzen ermittelt siehe Tab.11 im Anschluss.

Die Nachweisgrenzen für underivatisierte Proben liegen bei 35 von 51 Substanzen im Bereich von 0,002 bis 0,009ng/mg und bei 6 Substanzen zwischen 0,01 und 0,04ng/mg. Für folgende 10 Substanzen konnten underivatisiert aufgrund fehlender Linearität keine Nachweisgrenzwerte bestimmt werden: 7-Aminoflunitrazepam, Doxylamin, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, 6-MAM, Methamphetamin, Morphin, Olanzapin, Perazin und Zolpidem. Die Bestimmungsgrenzen underivatisierter Proben liegen etwa eine Zehnerpotenz über ihren Nachweisgrenzen.

Die Nachweisgrenzen für derivatisierte Proben liegen bei 6 von 51 Substanzen im Bereich von 0,003 bis 0,008ng/mg und bei 35 Substanzen zwischen 0,01 und 0,08ng/mg. Für 10 Substanzen konnten aufgrund fehlender Linearität derivatisiert keine Nachweisgrenzwerte bestimmt werden (Benperidol, Bromazepam, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, MDA, Norflunitrazepam, Olanzapin, Oxazepam, Perazin und Promethazin). Die Bestimmungsgrenzen derivatisierter Proben liegen etwa eine Zehnerpotenz über ihren Nachweisgrenzen.

Tabelle 11: Bestimmungs- und Nachweisgrenzen in ng/mg Haar

Substanzen	NWG Valistat underivatisiert	NWG Valistat PSA	BG Valistat underivatisiert	BG Valistat PSA
6-Acetylcodein	0,003	0,005	0,03	0,05
7-Amino-Flunitrazepam	-	0,05 prop	-	0,4 prop
Amitriptylin	0,003	0,01	0,03	0,08
Amphetamin	0,04	0,02 prop	0,4	0,21 prop
Benperidol	0,002	-	0,02	-
Benzoylecgonine	0,006	0,02	0,06	0,2
Biperiden	0,007	0,04	0,06	0,36
Bromazepam	0,003	-	0,03	-
Carbamazepin	0,01	0,02	0,1	0,15
Chlorprotixen	0,003	0,04	0,03	0,3
Clozapin	0,004	0,06 prop	0,04	0,4 prop
Cocaethylene	0,003	0,05	0,03	0,3
Cocain	0,009	0,006	0,09	0,05
Codein	0,008	0,02 prop	0,09	0,5 prop
Diazepam	0,002	0,01	0,02	0,09

Dihydrocodein	0,02	0,005prop	0,14	0,04 prop
Diphenhydramine	0,007	0,02	0,06	0,12
Doxepin	0,004	0,01	0,04	0,1
Doxylamin	-	0,03	-	0,2
Ecgoninmethylester	-	-	-	-
Flunitrazepam	0,005	0,05	0,04	0,5
Fluoxetine	0,004	0,05 prop	0,04	0,4 prop
Flupentixol	0,01	0,08 prop	0,1	0,7 prop
Fluphenazin	0,005	0,04 prop	0,04	0,3 prop
Haloperidol	0,007	0,02 prop	0,06	0,1 prop
Heroin	0,004	0,02	0,04	0,13
Levomepromazine	-	-	-	-
Lorazepam	0,007	0,08 prop	0,07	0,7 prop
6-MAM	-	0,06 prop	-	0,6 prop
MDA	0,03	-	0,36	-
MDE	0,007	0,02 prop	0,07	0,10 prop
MDMA	0,03	0,03 prop	0,2	0,20 prop
Methadon	0,007	0,003	0,07	0,03
Methamphetamin	-	0,01 prop	-	0,10 prop
Midazolam	0,004	0,01	0,04	0,1
Mirtazapin	0,007	0,008	0,06	0,06
Morphin	-	0,02 2-prop	-	0,10 2-prop
Nordiazepam	0,003	0,02	0,03	0,1
Norflunitrazepam	0,003	-	0,03	-
Olanzapin	-	-	-	-
Oxazepam	0,009	-	0,1	-
Paroxetin	0,006	0,06 prop	0,05	0,42 prop
Perazin	-	-	-	-
Promethazin	0,003	-	0,03	-
Prothipendyl	0,005	0,08	0,04	0,6
Quetiapin	0,005	0,02 prop	0,04	0,1 prop
Risperidon	0,008	0,02	0,07	0,16
Temazepam	0,009	0,04 prop	0,1	0,3 prop
Tramadol	0,003	0,004prop	0,03	0,04 prop
Venlafaxin	0,003	0,02	0,03	0,2
Zolpidem	-	0,02	-	0,15

Im direkten Vergleich mit derivatisierten Proben liegen die Nachweis- und Bestimmungsgrenzwerte der underivatisierten bei 25 von 51 Substanzen (49%) ca. eine Zehnerpotenz niedriger. Für diese Substanzen zeigt sich eine deutliche Abnahme der Nachweis-Sensitivität nach Derivatisierung. Für 6 Substanzen machte die Derivatisierung

eine Validierung erst möglich (7-Aminoflunitrazepam, Doxylamin, 6-MAM, Methamphetamin, Morphin, Zolpidem) und im Fall von Dihydrocodein wurde eine niedrigere Nachweisgrenze nach Derivatisierung ermittelt. Bei 9 Substanzen (6-Acetylcodein, Amphetamin, Carbamazepin, Cocain, Flupentixol, MDMA, Methadon, Mirtazapin und Tramadol) hat die Derivatisierung kaum Einfluss auf die Nachweisbarkeit, während bei Benperidol, Bromazepam, MDA, Norflunitrazepam und Oxazepam derivatisiert keine Validierung möglich war. Underivatisiert war dies hingegen möglich.

Insgesamt konnten für 4 von 51 Substanzen (Ecgoninmethylester, Levomepromazin, Olanzapin, Perazin) gar keine Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ermittelt werden.

5.7 Patientenhaare

Es werden nachfolgend die Ergebnisse der Untersuchung von Haarproben psychiatrischer Patienten dargestellt. Es sind die Medikationslisten, identifizierte Substanzen, zusätzlich zur angegebenen Medikation identifizierte Substanzen, die quantitative Auswertung und die Häufigkeit des Nachweises unterschiedlicher Substanzen aufgeführt.

5.7.1 Einnahmen

Die unter stationären Bedingungen kontrollierte Einnahme von Medikamenten und die Haarfarbe wurden wie unter 4.1.1 beschrieben eruiert und sind in Tab.12 im Anschluss aufgelistet.

Tabelle 12: Einnahmetage, Haarfarbe und Medikation

Patientencode	Haarfarbe	eingenommene Präparate	Einnahme (d)
1	grau-braun	Haloperidol (Haldol®)	10
		Lorazepam (Tavor®)	18
2	dunkelbraun	Carbamazepin (Tegretal®)	32
		Perazin	2
		Prothipendyl (Dominal®)	15
		Risperidon (Risperdal®)	7
3	schwarz	Venlafaxin (Trevilor®)	14
		Lorazepam (Tavor®)	24
		Promethazin (Atosil®)	12
4	dunkelbraun	Risperidon (Risperdal®)	27
		Haloperidol (Haldol®)	17

		Levomepromazin (Neurocil®)	21
		Lorazepam (Tavor®)	53
		Promethazin (Atosil®)	4
5	rötlich gefärbt	Flunitrazepam	1 (Suizidversuch)
		Lorazepam (Tavor®)	32
		Mirtazapin (Remergil®)	30
6	rot-braun	Biperiden (Akineton®)	30
		Haloperidol (Haldol®)	1
		Lorazepam (Tavor®)	b.B. 34
7	schwarz	Diazepam	45
8	dunkelblond	Chlorprothixen (Truxal®)	1
		Diazepam	23
		Haloperidol (Haldol®)	28
		Lorazepam (Tavor®)	15
9	dunkelbraun	Flupentixol (Fluanxol®)	Dauermedikation
		Haloperidol (Haldol®)	Vormedikation
		Olanzapin (Zyprexa®)	Vormedikation
10	dunkelbraun	Biperiden (Akineton®)	9
		Diazepam	22
		Haloperidol (Haldol®)	2
		Olanzapin (Zyprexa®)	7
		Risperidon (Risperdal®)	34
11	grau-braun	Benperidol (Glianimon®)	18
		Biperiden (Akineton®)	31
		Haloperidol (Haldol®)	16
		Lorazepam (Tavor®)	45
		Olanzapin (Zyprexa®)	52
12	mittelbraun	Benperidol (Glianimon®)	18
		Biperiden (Akineton®)	52
		Chlorprothixen (Truxal®)	b.B. 18
		Clozapin (Leponex®)	21
		Haloperidol (Haldol®)	39
		Lorazepam (Tavor®)	28
		Promethazin (Atosil®)	29
		Risperidon (Risperdal®)	7
13a	grau-schwarz	Fluphenazin (Lyogen®)	Dauermedikation
		Levomepromazin (Neurocil®)	Dauermedikation
		Paroxetin	Dauermedikation
13b	grau-schwarz	Levomepromazin (Neurocil®)	Dauermedikation
		Paroxetin	Dauermedikation
14a	mittelbraun 0-2 cm	Carbamazepin (Tegretal®)	44
14b	rötlich gefärbt 2-34 cm	Carbamazepin (Tegretal®)	44
15	mittelbraun	Amitriptylin	Dauermed. + 34
		Diazepam	39
		Levomepromazin (Neurocil®)	Dauermedikation
		Lorazepam (Tavor®)	Dauermed+7
		Promethazin (Atosil®)	39

		Prothipendyl (Dominal®)	15
		Quetiapin (Seroquel®)	Dauermedikation
16	dunkelbraun	Carbamazepin (Tegretal®)	49
		Fluoxetin (Fluctin®)	Dauermed. 5 Jahre
		Lorazepam (Tavor®)	20
		Prothipendyl (Dominal®)	Dauermed. 5 Jahre
		Quetiapin (Seroquel®)	20
17a	dunkelbraun	Biperiden (Akineton®)	Dauermedikation
		Diazepam	Vormedikation
		Haloperidol (Haldol®)	Vormed.+ 21
		Prothipendyl (Dominal®)	Dauermedikation
		Quetiapin (Seroquel®)	Dauermedikation
17b	dunkelbraun	Biperiden (Akineton®)	Dauermedikation
		Diazepam	Vormedikation
		Prothipendyl (Dominal®)	Dauermedikation
		Quetiapin (Seroquel®)	Dauermedikation
18a	hellbraun	Benperidol (Glianimon®)	19
		Biperiden (Akineton®)	18
		Lorazepam (Tavor®)	24
		Risperidon (Risperdal®)	11
		Zolpidem (Ximovan®)	24
18b	hellbraun	Benperidol (Glianimon®)	19
		Risperidon (Risperdal®)	11
		Zolpidem	24
19	braun	Diazepam,	1
		Flunitrazepam, Cocain,	1 Tag Ausgang
		Heroin,	
		Lorazepam (Tavor®),	22
		Methadon (Polamidon®)	Dauermed.
20	braun	Lorazepam (Tavor®)	31
21	grau	Promethazin (Atosil®)	Dauermed. 167
		Risperidon (Risperdal®)	Vormed. Depot + p.o.
22a	mittelbraun	Carbamazepin (Tegretal®)	35
		Diazepam	36
		Haloperidol (Haldol®)	36
		Risperidon (Risperdal®)	35
22b	mittelbraun	Carbamazepin (Tegretal®)	35
		Diazepam	36
		Risperidon (Risperdal®)	35
23a	dunkelblond	Benperidol (Glianimon®)	39
		Clozapin (Leponex®)	40
		Haloperidol (Haldol®)	1
		Lorazepam (Tavor®)	5
		Promethazin (Atosil®)	b.B. 40
23b	dunkelblond	Benperidol (Glianimon®)	39
		Clozapin (Leponex®)	40
		Haloperidol (Haldol®)	1
		Promethazin (Atosil®)	b.B. 40
24	schwarz, blondierte Spitzen Spitzen	Biperiden (Akineton®)	1
		Clozapin (Leponex®)	28
		Lorazepam (Tavor®)	24
		Promethazin (Atosil®)	15
		Risperidon (Risperdal®)	49

25	mittelbraun	Diazepam	Vormed. 180
26	grau	Mirtazapin (Remergil®)	54
27	grau	Biperiden (Akineton®)	13
		Haloperidol (Haldol®)	15
		Lorazepam (Tavor®)	15
28	schwarz	Clozapin (Leponex®)	Dauermedikation
29	mittelbraun	Diazepam	44
		Lorazepam (Tavor®)	30
		Quetiapin (Seroquel®)	62
30	dunkelbraun	Clozapin (Leponex®)	25
		Haloperidol (Haldol®)	35
31	schwarz	Biperiden (Akineton®)	Vormedikation
		Quetiapin (Seroquel®)	Vormed. 130
32	dunkelbraun	Biperiden (Akineton®)	7
		Haloperidol (Haldol®)	6
		Lorazepam (Tavor®)	21
		Olanzapin (Zyprexa®)	20
33a	grau-schwarz 0-1,5 cm	Doxepin (Aponal®)	16
		Lorazepam (Tavor®)	21
33b	grau-schwarz 1,5-6 cm	Doxepin (Aponal®)	16
		Lorazepam (Tavor®)	21
34	grau	Lorazepam (Tavor®)	19
		Risperidon (Risperdal®)	53
		Tramadol (Tramal®)	21
35	grau	Risperidon (Risperdal®)	9
36	blond	Risperidon (Risperdal®)	6
37	grau-braun	Haloperidol (Haldol®)	68
		Lorazepam (Tavor®)	55
		Risperidon (Risperdal®)	27
38	hellbraun	Flupentixol (Fluanxol®)	Depot
		Haloperidol (Haldol®)	1
39	blond	Carbamazepin (Tegretal®)	5
		Mirtazapin (Remergil®)	5
40	grau-braun	Lorazepam (Tavor®)	2
		Risperidon (Risperdal®)	2

5.7.2 Nachweis zentralwirksamer Substanzen in Patientenhaaren

Die Untersuchung wurde wie unter 4.3.2 beschrieben durchgeführt.

In 31 von 47 Proben wurden alle eingenommenen Substanzen nachgewiesen (66%). In 14 von 47 Proben wurde eine der Substanzen nicht nachgewiesen, in Nr. 10 waren 2 und in Nr. 32 3 Substanzen nicht nachweisbar. Die nicht nachgewiesenen Substanzen waren Biperiden (4 Fälle), Lorazepam (8 Fälle), Olanzapin (4 Fälle) und Risperidon (1 Fall). Unabhängig von der Haarfarbe wurde in jeder Haarprobe zumindest eine der eingenommenen Substanzen identifiziert.

In 125 von 144 Einnahmefällen (87%) wurden die angegebenen Substanzen analytisch nachgewiesen. In allen Einnahmefällen nachgewiesen wurden 23 Substanzen: Haloperidol (16 Fälle), Diazepam (9 Fälle), Promethazin (7 Fälle), Carbamazepin (5 Fälle), Clozapin (5 Fälle), Quetiapin (5 Fälle), Benperidol (4 Fälle), Prothipendyl (4 Fälle), Levomepromazin (3 Fälle), Chlorprothixen (2 Fälle), Mirtazapin (2 Fälle) und in jeweils einem Fall Amitriptylin, Doxepin, Flunitrazepam, Fluoxetin, Flupentixol, Fluphenazin, Methadon, Paroxetin, Perazin, Tramadol, Venlafaxin und Zolpidem. Lorazepam wurde nur in 14 von 22 Fällen nachgewiesen, Risperidon in 12/13 und Biperiden in 6/10 Fällen. Die geringere Einnahmemenge Biperiden von insgesamt 3-36mg in 4 Fällen ließ sich in der Haaranalyse nicht bestätigen; bei den 6 Patienten mit einer eingenommenen Gesamtdosis von 52-416mg war der Haarbefund positiv. Bei Lorazepam und Risperidon lässt sich kein Zusammenhang zwischen den negativen Befunden und niedrigeren Dosierungen feststellen. In Patientenhaaren gar nicht nachgewiesen wurde Olanzapin (0/4), das in Gesamtdosen von 105-830mg eingenommen worden war. In nachfolgender Tab. 13 sind die Einnahmetage, die Zeit von letzter Medikamenteneinnahme bis zum Entnahmedatum, die eingenommene Gesamtdosis und die Haarbefunde dargestellt.

Tabelle 13: Medikation und Nachweis der Medikation in den Haaren

Code	eingenom. Subst.	Einnahmezeit (Tage (d))	Abstand zur Ent- nahme (d)	Gesamtdosis (mg)	Identifikation pos./neg.
1	Haloperidol	10	17	250mg	+
	Lorazepam	18	18	56mg	+
2	Carbamazepin	32	43	9600-19200mg	+
	Perazin	2	15	100mg	+
	Prothipendyl	15	15	1200mg	+
	Risperidon	7	43	14mg	+
	Venlafaxin	14	14	2100mg	+
3	Lorazepam	24	27	44,5mg	+
	Promethazin	12	18	900-1200mg	+
	Risperidon	27	27	216mg	+
4	Haloperidol	17	52	85-127,5mg	+
	Levomepromazin	21	21	525mg	+
	Lorazepam	53	53	73,25mg	-
	Promethazin	4	23	100mg	+
5	Flunitrazepam	1(Suizidversuch)	31	ca. 80mg	+
	Lorazepam	32	32	21,5mg	-

	Mirtazapin	30	30	900mg	+
6	Biperiden	30	30	120mg	+
	Haloperidol	1	33	25mg	+
	Lorazepam	b.B. 34	34	> 2mg	-
	Diazepam	45	45	225mg	+
8	Chlorprothixen	1	20	200mg	+
	Diazepam	23	23	230-345mg	+
	Haloperidol	28	28	25mg	+
	Lorazepam	15	28	3000mg	+
9	Flupentixol	Dauermedikation	>60	> 280mg	+
	Haloperidol	Vormedikation	?	?	+
	Olanzapin	Vormedikation	?	?	-
10	Biperiden	9	47	36mg	-
	Diazepam	22	47	ca. 230mg	+
	Haloperidol	2	22	20mg	+
	Olanzapin	7	46	105	-
	Risperidon	34	34	136mg	+
11	Benperidol	18	30	ca. 216mg	+
	Biperiden	31	31	124-248mg	+
	Haloperidol	16	45	240-320mg	+
	Lorazepam	45	45	ca. 120mg	+
	Olanzapin	52	52	ca. 830mg	-
12	Benperidol	18	18	288mg	+
	Biperiden	52	52	208-416mg	+
	Chlorprothixen	b.B. 18	18	> 80mg	+
	Clozapin	21	29	ca. 6650mg	+
	Haloperidol	39	56	> 80mg	+
	Lorazepam	28	55	ca. 120,5mg	+
	Promethazin	29	36	3625-5800mg	+
	Risperidon	7	55	28-42mg	-
13a	Fluphenazin	Dauermedikation	> 30	> 1200mg	+
	Levomepromazin	Dauermedikation	> 30	> 1500mg	+
	Paroxetin	Dauermedikation	> 30	> 600mg	+
13b	Levomepromazin	Dauermedikation	> 30	> 1500mg	+
	Paroxetin	Dauermedikation	> 30	> 600mg	+
14a	Carbamazepin	44	44	> 13200mg	+
14b	Carbamazepin	44	44	> 13200mg	+
15	Amitriptylin	Dauermed. + 34	> 34	> 2040mg	+
	Diazepam	39	39	390-780mg	+
	Levomepromazin	Dauermedikation	> 30	> 750mg	+
	Lorazepam	Dauermed+7	> 39	> 21mg	+
	Promethazin	39	39	3900mg	+
	Prothipendyl	15	15	600mg	+
	Quetiapin	Dauermedikation	> 30	> 18000 mg	+
16	Carbamazepin	49	49	19600mg	+
	Fluoxetin	Dauermed. 5 Jahre	5 Jahre	ca. 73000mg	+
	Lorazepam	20	20	20mg	+
	Prothipendyl	Dauermed. 5 Jahre	5 Jahre	ca. 146000mg	+
	Quetiapin	20	20	500-2000mg	+
17a	Biperiden	Dauermedikation	> 30	> 120mg	+

	Diazepam	Vormedikation	?	> 105mg	+
	Haloperidol	Vormed.+ 21	21 / ?	> 315mg	+
	Prothipendyl	Dauermedikation	> 30	> 2400mg	+
	Quetiapin	Dauermedikation	> 30	> 22500mg	+
17b	Biperiden	Dauermedikation	> 30	> 120mg	+
	Diazepam	Vormedikation	?	> 105mg	+
	Prothipendyl	Dauermedikation	> 30	> 2400mg	+
	Quetiapin	Dauermedikation	> 30	> 22500mg	+
18a	Benperidol	19	19	ca.536mg	+
	Biperiden	18	18	144mg	+
	Lorazepam	24	24	92mg	+
	Risperidon	11	23	66mg	+
	Zolpidem	24	24	180mg	-
18b	Benperidol	19	19	ca.536mg	+
	Risperidon	11	23	66mg	+
	Zolpidem	24	24	180mg	+
19	Cocain	1 Tag Ausgang	25	?	+
	Diazepam	1	22	60mg	+
	Flunitrazepam	1 Tag Ausgang	25	?	-
	Heroin	1 Tag Ausgang	25	?	-
	Lorazepam	22	22	66mg	-
	Methadon	Dauermed.	>60	>2400mg	+
20	Lorazepam	31	31	93mg	+
21	Promethazin	Dauermed. 167	167	ca. 25050mg	+
	Risperidon	Vormed. Depot + p.o.	> 60	> 170mg	+
22a	Carbamazepin	35	35	31500mg	+
	Diazepam	36	36	?	+
	Haloperidol	36	36	> 180mg	+
	Risperidon	35	35	70mg	+
22b	Carbamazepin	35	35	31500mg	+
	Diazepam	36	36	?	+
	Risperidon	35	35	70mg	+
23a	Benperidol	39	39	468mg	+
	Clozapin	40	40	6000-16000mg	+
	Haloperidol	1	35	15mg	+
	Lorazepam	5	39	60mg	-
	Promethazin	b.B. 40	40	>1200mg	+
23b	Benperidol	39	39	468mg	+
	Clozapin	40	40	6000-16000mg	+
	Haloperidol	1	35	15mg	+
	Promethazin	b.B. 40	40	>1200mg	+
24	Biperiden	1	34	3mg	-
	Clozapin	28	44	ca. 4250mg	+
	Lorazepam	24	48	ca. 54mg	+
	Promethazin	15	47	1500mg	+
	Risperidon	49	49	392mg	+
25	Diazepam	Vormed. 180	180	180mg	+
26	Mirtazapin	54	54	1500mg	+
27	Biperiden	13	20	52mg	+

	Haloperidol	15	29	300-450mg	+
	Lorazepam	15	29	30-60mg	+
28	Clozapin	Dauermedikation	> 30	> 3750mg	+
29	Diazepam	44	103	660-1100mg	+
	Lorazepam	30	112	90mg	-
	Quetiapin	62	103	74400	+
30	Clozapin	25	44	ca. 3250mg	+
	Haloperidol	35	54	350-525mg	+
31	Biperiden	Vormedikation	?	?	-
	Quetiapin	Vormed. 130	130	ca. 156000mg	+
32	Biperiden	7	19	28mg	-
	Haloperidol	6	20	60mg	+
	Lorazepam	21	21	15,75-21mg	-
	Olanzapin	20	20	200-400mg	-
33a	Doxepin	21	21	ca. 2205mg	+
	Lorazepam	16	84	8-16mg	-
33b	Doxepin	21	21	ca. 2205mg	+
	Lorazepam	16	84	8-16mg	-
34	Lorazepam	19	53	22mg	+
	Risperidon	53	53	424mg	+
	Tramadol	21	53	ca. 930mg	+
35	Risperidon	9	84	9-18mg	+
36	Risperidon	6	23	30mg	+
37	Haloperidol	68	57	680mg	+
	Lorazepam	55	51	110-220mg	+
	Risperidon	27	42	135mg	+
38	Flupentixol	Depot	> 30	>90mg	+
	Haloperidol	1	2	5-10mg	+
39	Carbamazepin	>30	>30	>12000mg	+
	Mirtazapin	5	5	150mg	+
40	Lorazepam	2+Vormed.	>30	>30mg	+
	Risperidon	2+Vormed.	>30	>180mg	+

5.7.3 Zusätzliche Befunde

Außer den zu erwartenden Substanzen (siehe 5.7.1, Tab. 12) wurde manuell und mit MFE auch nach weiteren Substanzen gesucht. Es fanden sich in 45 von 47 Proben nicht angegebene Substanzen im Haar (96%); insgesamt 193 Zusatzbefunde.

Haloperidol wurde 22 mal nebenbefundlich nachgewiesen, Risperidon 21 mal, Promethazin 16 mal, Nordiazepam 14 mal, Diazepam und Carbamazepin 13 mal, Cocain 12 mal und Benperidol 8 mal. Amitriptylin und Levomepromazin wurden nebenbefundlich 6 mal, Benzoyllecgonin, Cocaethylen, Methadon und Quetiapin 5 mal, Methadon, Prothipendyl und

Venlafaxin 4 mal, Chlorprothixen, Doxepin, Fluoxetin und Zolpidem 3 mal nachgewiesen. In jeweils 2 Proben zusätzlich nachgewiesen wurden 6-Acetylcodein, Amphetamin, Clozapin, Fluphenazin, 6-MAM, Morphin, Paroxetin und Tramadol; in jeweils einem Fall auch Diphenhydramin, Doxepin, Doxylamin und Lorazepam. In 12 der 13 Proben, in denen nebenbefundlich Diazepam nachweisbar war, fand sich auch Nordiazepam. Die positiven Cocainbefunde ließen sich in 6 von 12 Fällen durch den Nachweis von Metaboliten (Benzoyllecgonin, Cocaethylen) bestätigen. In 2 Probenabschnitten mit positivem Amphetaminbefund wurde außerdem 6-Acetylcodein, 6-MAM, Morphin und Cocain mit Metaboliten nachgewiesen.

Ergebnisse der zusätzlich identifizierten Substanzen:

Pat. 1: keine

Pat. 2: Haloperidol, Quetiapin

Pat. 3: Haloperidol

Pat. 4: Risperidon

Pat. 5: Cocain, Diazepam, Haloperidol

Pat. 6: Risperidon

Pat. 7: Haloperidol, Nordiazepam

Pat. 8: Benperidol, Carbamazepin, Clozapin, Nordiazepam, Risperidon

Pat. 9: Benperidol, Carbamazepin, Promethazin, Risperidon

Pat. 10: Carbamazepin, Nordiazepam

Pat. 11: Carbamazepin, Promethazin

Pat. 12: keine

Pat. 13a: Benperidol, Haloperidol, Promethazin, Risperidon

Pat. 13b: Fluphenazin, Haloperidol, Promethazin, Risperidon

-
- Pat. 14a: Amitriptylin, Benperidol, Chlorprothixen, Diazepam, Haloperidol,
Levomepromazin, Nordiazepam, Paroxetin, Promethazin, Risperidon, Venlafaxin,
Zolpidem
- Pat. 14b: Diazepam, Haloperidol, Nordiazepam, Risperidon, Venlafaxin
- Pat. 15: Cocain, Doxepin, Nordiazepam, Risperidon, Venlafaxin
- Pat. 16: Amitriptylin, Benzoyllecgonin, Cocaethylen, Cocain, Diazepam, Doxepin,
Nordiazepam, Promethazin, Risperidon, Venlafaxin
- Pat. 17a: Amitriptylin, Carbamazepin, Cocaethylen, Cocain, Fluoxetin, Nordiazepam,
Promethazin, Risperidon
- Pat. 17b: Amitriptylin, Carbamazepin, Cocain, Fluoxetin, Haloperidol, Nordiazepam,
Risperidon
- Pat. 18a: Amitriptylin, Carbamazepin, Diazepam, Fluoxetin, Haloperidol, Nordiazepam,
Promethazin, Prothipendyl, Quetiapin
- Pat. 18b: Carbamazepin, Diazepam, Lorazepam
- Pat. 19: 7-Aminoflunitrazepam, Benzoyllecgonin, Cocaethylen, Cocain, Doxepin, Mirtazapin
- Pat. 20: Carbamazepin, Diphenhydramin, Methadon
- Pat. 21: Carbamazepin, Cocain, Diazepam
- Pat. 22a: Promethazin
- Pat. 22b: Promethazin
- Pat. 23a: Carbamazepin, Levomepromazin
- Pat. 23b: Benzoyllecgonin, Carbamazepin, Cocain
- Pat. 24: Benperidol, Haloperidol
- Pat. 25: Cocain, Haloperidol, Levomepromazin, Nordiazepam, Promethazin, Quetiapin,
Risperidon
- Pat. 26: Diazepam, Risperidon, Tramadol

-
- Pat. 27: Prothipendyl, Risperidon, Zolpidem
- Pat. 28: Chlorprothixen, Diazepam, Haloperidol, Risperidon
- Pat. 29: Haloperidol, Nordiazepam, Prothipendyl, Risperidon
- Pat. 30: Benperidol, Diazepam, Doxylamin, Levomepromazin, Nordiazepam, Promethazin, Quetiapin, Risperidon
- Pat. 31: Carbamazepin, Clozapin, Diazepam, Haloperidol, Levomepromazin, Nordiazepam, Promethazin, Prothipendyl, Risperidon
- Pat. 32: Diazepam, Promethazin, Quetiapin, Risperidon
- Pat. 33a: 6-Acetylmorphin, Amphetamin, Benzoylcegonin, Cocaethylen, Cocain, Haloperidol, Methadon, 6-Monoacetylmorphin, Morphin
- Pat. 33b: 6-Acetylmorphin, Amphetamin, Benzoylcegonin, Cocaethylen, Cocain, Haloperidol, Methadon, 6-Monoacetylmorphin, Morphin
- Pat. 34: Benperidol, Chlorprothixen, Diazepam, Doxepin, Haloperidol, Methadon, Promethazin
- Pat. 35: Benperidol, Cocain, Haloperidol, Methadon, Tramadol
- Pat. 36: Haloperidol
- Pat. 37: keine
- Pat. 38: Risperidon, Zolpidem
- Pat. 39: Amitriptylin
- Pat. 40: Haloperidol

5.7.4 Quantifizierung der nachgewiesenen Substanzen in Patientenhaaren

Es wurden die dokumentiert eingenommenen Substanzen und auch zusätzlich identifizierte Substanzen mit Analyst quantitativ ausgewertet. Die Ergebnisse sind in nachstehender Tab. 14 zu finden. Bei Angabe von Werten $>x/<x$ lagen die integrierten „Analyte Peak Areas“

außerhalb des linearen validierten Arbeitsbereiches und werden daher in der nachfolgenden Tabelle als $>/<$ oberer/unterer Grenzwert angegeben.

Bsp.1: Ein $> 0,5\text{ng/mg}$ bedeutet also, dass die Probenkonzentration über dem für diese Substanz errechneten oberen linearen Wert von $0,5\text{ng/mg}$ liegt. Ein $\gg 0,5\text{ng/mg}$ zeigt eine mehrere Zehnerpotenzen höher liegende Substanzkonzentration in der Probe. In diesen Konzentrationbereichen ist keine Linearität mehr gegeben, eine exakte Quantifizierung also nicht möglich.

Bsp.2: Ein $< 0,02\text{ng/mg}$ bedeutet, dass die Probenkonzentration unter der für diese Substanz errechneten untersten linearen Wert von $0,02\text{ng/mg}$ liegt. Das bedeutet, die Substanz ist nachweisbar, die Menge aber nicht exakt quantifizierbar, da in diesem Konzentrationsbereich keine Linearität mehr gegeben ist.

Tabelle 14: Quantifizierung

Patienten-Code	kontrolliert eingenommene Substanzen	identifiz. Subst.	Quantifiz. (ng/mg)	zusätzlich identifizierte Substanzen	Quantifiz. (ng/mg)
1	Haloperidol Lorazepam	+ +	0,2 0,02		
2	Carbamazepin Perazin Prothipendyl Risperidon Venlafaxin	+ + + + +	$\gg 0,15$ nicht mögl. $> 0,2$ $> 0,5$ $\gg 0,2$	Haloperidol Quetiapin	$< 0,02$ 0,08
3	Lorazepam Promethazin Risperidon	+ + +	$< 0,02$ 0,15 0,4	Haloperidol	$< 0,02$
4	Haloperidol Levomepromazin Lorazepam Promethazin	+ + - +	$> 0,5$ nicht mögl. - $< 0,02$	Risperidon	$< 0,02$
5	Flunitrazepam Lorazepam Mirtazapin	+ - +	$< 0,05$ - $\gg 0,1$	Cocain Diazepam Haloperidol	$< 0,1$ - $< 0,02$
6	Biperiden Haloperidol Lorazepam	+ + -	$\gg 0,2$ $> 0,5$ -	Risperidon	0,05
7	Diazepam	+	$< 0,05$	Haloperidol Nordiazepam	0,2 -
8	Chlorprothixen	+	$< 0,05$	Benperidol	$\gg 0,15$

	Diazepam	+	0,06	Carbamazepin	>>0,15
	Haloperidol	+	0,12	Clozapin	>0,2
	Lorazepam	+	<0,02	Nordiazepam	0,15
				Risperidon	0,08
9	Flupentixol	+	0,25	Benperidol	<0,02
	Haloperidol	+	0,2	Carbamazepin	0,15
	Olanzapin	-	-	Promethazin	0,5
				Risperidon	>0,5
10	Biperiden	-	-	Carbamazepin	>>0,15
	Diazepam	+	<0,05	Nordiazepam	0,07
	Haloperidol	+	0,07		
	Olanzapin	-	-		
	Risperidon	+	0,10		
11	Benperidol	+	>>0,15	Carbamazepin	>0,15
	Biperiden	+	<0,02	Promethazin	<0,02
	Haloperidol	+	>0,5		
	Lorazepam	+	0,08		
	Olanzapin	-	-		
12	Benperidol	+	>0,15		
	Biperiden	+	<0,02		
	Chlorprothixen	+	<0,05		
	Clozapin	+	>0,2		
	Haloperidol	+	>0,5		
	Lorazepam	+	0,06		
	Promethazin	+	>0,5		
	Risperidon	-	-		
13a	Fluphenazin	+	0,05	Benperidol	0,05
	Levomepromazin	+	nicht mögl.	Haloperidol	0,5
	Paroxetin	+	<0,02	Promethazin	0,35
				Risperidon	<0,02
13b	Levomepromazin	+	nicht mögl.	Fluphenazin	0,09
	Paroxetin	+	-	Haloperidol	0,12
				Promethazin	<0,02
				Risperidon	-
14a	Carbamazepin	+	>>0,15	Amitriptylin	>0,5
				Benperidol	<0,02
				Chlorprothixen	<0,05
				Diazepam	<0,05
				Haloperidol	0,07
				Levomepromazin	nicht mögl.
				Nordiazepam	0,03
				Paroxetin	<0,02
				Promethazin	<0,02
				Risperidon	>0,5
				Venlafaxin	>>0,2
				Zolpidem	nicht mögl.
14b	Carbamazepin	+	>>0,15	Diazepam	<0,05
				Haloperidol	<0,02
				Nordiazepam	0,04
				Risperidon	0,13

				Venlafaxin	>>0,2
15	Amitriptylin	+	>>0,5	Cocain	<0,05
	Diazepam	+	0,05	Doxepin	<0,02
	Levomepromazin	+	nicht mögl.	Nordiazepam	0,1
	Lorazepam	+	0,06	Risperidon	0,28
	Promethazin	+	0,5	Venlafaxin	>0,2
	Prothipendyl	+	<0,02		
	Quetiapin	+	>0,5		
16	Carbamazepin	+	>>0,15	Amitriptylin	0,11
	Fluoxetin	+	>0,5	Benzoylecgonin	>0,1
	Lorazepam	+	<0,02	Cocaethylen	>0,2
	Prothipendyl	+	>0,2	Cocain	>>0,15
	Quetiapin	+	0,13	Diazepam	0,12
				Doxepin	<0,02
				Nordiazepam	<0,02
				Promethazin	<0,02
				Risperidon	<0,02
				Venlafaxin	0,04
17a	Biperiden	+	-	Amitriptylin	<0,02
	Diazepam	+	<0,05	Carbamazepin	>>0,15
	Haloperidol	+	0,07	Cocaethylen	<0,08
	Prothipendyl	+	0,14	Cocain	0,07
	Quetiapin	+	>0,5	Fluoxetin	0,4
				Nordiazepam	0,05
				Promethazin	<0,02
				Risperidon	<0,02
17b	Biperiden	+	-	Amitriptylin	<0,02
	Diazepam	+	<0,05	Carbamazepin	0,03
	Prothipendyl	+	<0,02	Cocain	-
	Quetiapin	+	>0,5	Fluoxetin	0,12
				Haloperidol	<0,02
				Nordiazepam	0,03
				Risperidon	<0,02
18a	Benperidol	+	>0,15	Amitriptylin	<0,02
	Biperiden	+	-	Carbamazepin	0,08-0,1
	Lorazepam	+	0,06	Diazepam	-
	Risperidon	+	0,09	Fluoxetin	0,08-0,1
	Zolpidem	-	-	Haloperidol	<0,02
				Nordiazepam	-
				Promethazin	<0,02
				Prothipendyl	-
				Quetiapin	0,2-0,5
18b	Benperidol	+	<0,02	Carbamazepin	0,09
	Risperidon	+	-	Diazepam	-
	Zolpidem	+	nicht mögl.	Lorazepam	0,08
19	Diazepam	+	0,05	7-Aminofluni	n.q.
	Lorazepam	-	-	Benzoylecgonin	0,42
	Methadon	+	0,17	Cocaethylen	0,16
				Cocain	>0,3

				Doxepin	>0,1
				Mirtazapin	>0,1
20	Lorazepam	+	<0,02	Carbamazepin	0,8
				Diphenhydramin	n.q.
				Methadon	0,04
21	Promethazin	+	>0,5	Carbamazepin	0,05
	Risperidon	+	>0,5	Cocain	<0,05
				Diazepam	-
22a	Carbamazepin	+	>>0,15	Promethazin	0,07
	Diazepam	-	-		
	Haloperidol	+	0,05		
	Risperidon	+	0,06		
22b	Carbamazepin	+	>>0,15	Promethazin	<0,02
	Diazepam	+	-		
	Risperidon	+	<0,02		
23a	Benperidol	+	0,02	Carbamazepin	>0,15
	Clozapin	+	>0,2	Levomepromazin	nicht mögl.
	Haloperidol	+	0,05		
	Lorazepam	-	-		
	Promethazin	+	>0,5		
23b	Benperidol	+	<0,02	Benzoylcgonin	0,05
	Clozapin	+	>0,2	Carbamazepin	0,15
	Haloperidol	+	<0,02	Cocain	<0,05
	Promethazin	+	0,5		
24	Biperiden	-	-	Benperidol	<0,02
	Clozapin	+	>> 0,2	Haloperidol	<0,02
	Lorazepam	+	<0,02		
	Promethazin	+	>0,5		
	Risperidon	+	>0,5		
25	Diazepam	+	<0,05	Cocain	0,05
				Haloperidol	<0,02
				Levomepromazin	nicht mögl.
				Nordiazepam	0,06
				Promethazin	0,07
				Quetiapin	0,09
				Risperidon	>0,5
26	Mirtazapin	+	>0,1	Diazepam	-
				Risperidon	0,4
				Tramadol	0,08
27	Biperiden	+	-	Zolpidem	nicht mögl.
	Haloperidol	+	0,4	Prothipendyl	<0,02
	Lorazepam	+	0,05	Risperidon	0,1
28	Clozapin	+	>>0,2	Chlorprothixen	<0,05
				Diazepam	-
				Haloperidol	<0,02
				Risperidon	<0,02
29	Diazepam	-	-	Haloperidol	<0,02
	Lorazepam	-	-	Nordiazepam	-
	Quetiapin	+	>0,5	Prothipendyl	-

				Risperidon	<0,02
30	Clozapin	+	>0,2	Benperidol	>>0,15
	Haloperidol	+	>>0,5	Diazepam	0,05
				Doxylamin	nicht mögl.
				Levomepromazin	nicht mögl.
				Nordiazepam	0,17
				Promethazin	>>0,5
				Quetiapin	<0,02
				Risperidon	0,5
31	Biperiden	-	-	Carbamazepin	0,02
	Quetiapin	+	>>0,5	Clozapin	0,18
				Diazepam	0,15
				Haloperidol	0,4
				Levomepromazin	nicht mögl.
				Nordiazepam	>0,2
				Promethazin	0,5
				Prothipendyl	<0,02
				Risperidon	<0,02
32	Biperiden	-	-	Diazepam	-
	Haloperidol	+	0,19	Promethazin	<0,02
	Lorazepam	-	-	Quetiapin	0,05-0,08
	Olanzapin	-	-	Risperidon	<0,02
33a	Doxepin	+	>>0,1	6-Acetylcodein	0,03
	Lorazepam	-	-	6-MAM	nicht mögl.
				Amphetamin	-
				Benzoyllecgonin	>>0,1
				Cocaethylen	<0,08
				Cocain	>>0,15
				Haloperidol	<0,02
				Methadon	0,14
				Morphin	nicht mögl.
33b	Doxepin	+	>0,1	6-Acetylcodein	0,08
	Lorazepam	-	-	6-MAM	nicht mögl.
				Amphetamin	-
				Benzoyllecgonin	>>0,1
				Cocaethylen	0,1
				Cocain	>>0,15
				Haloperidol	<0,02
				Methadon	0,15
				Morphin	nicht mögl.
34	Lorazepam	+	0,05	Benperidol	0,13
	Risperidon	+	0,23	Chlorprothixen	<0,05
	Tramadol	+	>>0,15	Diazepam	-
				Doxepin	<0,02
				Haloperidol	0,05
				Methadon	<0,02
				Promethazin	<0,02
35	Risperidon	+	0,11	Benperidol	<0,02
				Cocain	-

				Haloperidol	<0,02
				Methadon	-
				Tramadol	0,04
36	Risperidon	+	< 0,02	Haloperidol	0,5
37	Haloperidol	+	0,5		
	Lorazepam	+	<0,02		
	Risperidon	+	0,05		
38	Flupentixol	+	0,2	Risperidon	0,05
	Haloperidol	+	0,2	Zolpidem	n.q.
39	Carbamazepin	+	>>0,15	Amitriptylin	0,15
	Mirtazapin	+	>0,1		
40	Lorazepam	+	<0,02	Haloperidol	0,18
	Risperidon	+	0,05		

6 Substanzen konnten hier aufgrund nicht bestimmbarer linearer Arbeitsbereiche (vgl. 5.4) nicht quantifiziert werden: Doxylamin, Levomepromazin, 6-MAM, Morphin, Perazin und Zolpidem. Die 12 positiven Cocainbefunde zeigten bis auf drei (Probe Nr. 16, 19, 33a und 33b) eine niedrigere Konzentration als 1ng/mg. Es ließen sich 6 von 12 Cocainbefunden durch den Nachweis von Metaboliten (Benzoyllecgonin, Cocaethylen) bestätigen.

5.7.5 Häufigkeiten verschiedener Substanznachweise

Die einzelnen Substanzen wurden in unterschiedlicher Häufigkeit nebenbefundlich in Haarproben nachgewiesen. Soweit möglich wurden diese Befunde auch quantitativ ausgewertet. Liegen die gemessenen Werte außerhalb des linearen quantifizierbaren Bereichs, wird als quantitativer Wert < minimale oder > maximale Konzentration des validen Kalibrationsbereiches angegeben. Eine schriftliche Zusammenfassung der in Tab. 15 enthaltenen Informationen folgt im Anschluss.

Tabelle 15: Zusammenhang eingenommener Substanzmengen mit manueller Identifizierung und quantitativer Auswertung

Substanzen	Code	Einnahme (d)	Abstand zur Entnahme (d)	Gesamtdosis (mg)	Identifikation (pos/neg)	Quantifiz. (ng/mg)
Amitriptylin	15	Dauermedikation + 34 Tage Klinik	> 34	> 2040mg	+	>>0,5
Biperiden	6	30	30	120mg	+	>>0,2
Biperiden	10	9	47	36mg	-	-

Biperiden	11	31	31	124-248mg	+	<0,02
Biperiden	12	52	52	208-416mg	+	<0,02
Biperiden	17	Dauermedikation	> 30	> 120mg	+	-
Biperiden	18	18	18	144mg	+	-
Biperiden	24	1	34	3mg	-	-
Biperiden	27	13	20	52mg	+	-
Biperiden	31	Vormedikation	?	?	-	-
Biperiden	32	7	19	28mg	-	-
Benperidol	11	18	30	ca. 216mg	+	>>0,15
Benperidol	12	18	18	288mg	+	>0,15
Benperidol	18	19	19	ca.536mg	+	>0,15
Benperidol	23	39	39	468mg	+	0,02
Carbamazepin	2	32	43	9600- 19200mg	+	>>0,15
Carbamazepin	14	44	44	> 13200mg	+	>>0,15
Carbamazepin	16	49	49	19600mg	+	>>0,15
Carbamazepin	22	35	35	31500mg	+	>>0,15
Carbamazepin	39	>30	>30	>12000mg	+	>>0,15
Chlorprothixen	8	1	20	200mg	+	<0,05
Chlorprothixen	12	b.B. 18 Tage	18	> 80mg	+	<0,05
Clozapin	12	21	29	ca. 6650mg	+	>0,2
Clozapin	23	40	40	6000- 16000mg	+	>0,2
Clozapin	24	28	44	ca. 4250mg	+	>>0,2
Clozapin	28	Dauermedikation	> 30	> 3750mg	+	>>0,2
Clozapin	30	25	44	ca. 3250mg	+	>0,2
Diazepam	7	45	45	225mg	+	<0,05
Diazepam	8	23	23	230-345mg	(+ Nordiaz)	(-) 0,06
Diazepam	10	22	47	ca. 230mg	(+ Nordiaz)	(0,15) <0,05
Diazepam	15	39	39	390-780mg	(+ Nordiaz)	(0,05) 0,08
Diazepam	17	Vormedikation	?	> 105mg	(+ Nordiaz)	(0,1) 0,07
Diazepam	22	36	36	?	+	-
Diazepam	25	Vormedikation 6 Monate	6 Monate	180mg	(+ Nordiaz)	<0,05 (0,06)
Diazepam	29	44	103	660-1100mg	(+ Nordiaz)	- (-)
Diazepam	19	1	22	60mg	(+ Nordiaz)	0,05 (-)
Doxepin	33	21	21	ca. 2205mg	+	>>0,1
Flunitrazepam	5	1 (Suizidversuch)	31	ca. 80mg	+	<0,05
Fluoxetin	16	Dauermed. 5 Jahre	5 Jahre	ca. 73000mg	+	>0,5
Flupentixol	9	Dauermedikation	>60	> 280mg	+	0,4
Flupentixol	38	Depot	>30	>90mg	+	0,2
Fluphenazin	13	Dauermedikation	>30	> 1200mg	+	0,05
Haloperidol	1	10	17	250mg	+	0,2
Haloperidol	4	17	52	85-127,5mg	+	>0,5

Haloperidol	6	1	33	25mg	+	>0,5
Haloperidol	8	28	28	25mg	+	0,13
Haloperidol	9	Vormedikation	?	?	+	0,2
Haloperidol	10	2	22	20mg	+	0,07
Haloperidol	11	16	45	240-320mg	+	>0,5
Haloperidol	12	39	56	> 80mg	+	>0,5
Haloperidol	17a	kontr. 21/ lange Vormed.	21 / ?	> 315mg	+	0,06
Haloperidol	22a	36	36	> 180mg	+	0,05
Haloperidol	23	1	35	15mg	+	0,05
Haloperidol	27	15	29	300-450mg	+	0,4
Haloperidol	30	35	54	350-525mg	+	>>0,5
Haloperidol	32	6	20	60mg	+	0,2
Haloperidol	37	68	57	680mg	+	0,5
Haloperidol	38	1	2	5-10mg	+	0,2
Levomepromazin	4	21	21	525mg	+	n.quantifiz.
Levomepromazin	13	Dauermedikation	> 30	> 1500mg	+	n.quantifiz.
Levomepromazin	15	Dauermedikation	> 30	> 750mg	+	n.quantifiz.
Lorazepam	1	18	18	56mg	+	0,02
Lorazepam	3	24	27	44,5mg	+	<0,02
Lorazepam	4	53	53	73,25mg	-	-
Lorazepam	5	32	32	21,5mg	-	-
Lorazepam	6	Bedarfsmedikation 34 Tage	34	> 2mg	-	-
Lorazepam	8	15	28	3000mg	+	<0,02
Lorazepam	11	45	45	ca. 120mg	+	0,09
Lorazepam	12	28	55	ca. 120,5mg	+	0,05
Lorazepam	15	Dauermedikation+7 Tage Klinik	> 39	> 21mg	+	0,08
Lorazepam	16	20	20	20mg	+	<0,02
Lorazepam	18	24	24	92mg	+	0,06
Lorazepam	23	5	39	60mg	-	-
Lorazepam	24	24	48	ca. 54mg	+	<0,02
Lorazepam	27	15	29	30-60mg	+	0,05
Lorazepam	29	30	112	90mg	-	-
Lorazepam	32	21	21	15,75-21mg	-	-
Lorazepam	33	16	84	8-16mg	-	-
Lorazepam	34	19	53	22mg	+	0,05
Lorazepam	37	55	51	110-220mg	+	<0,02
Lorazepam	40	2+Vormed.	>30	>30mg	+	0,02
Lorazepam	19	22	22	66mg	-	-
Lorazepam	20	31	31	93mg	+	<0,02
Methadon	19	Dauermedikation	>60	>2400mg	+	0,17
Mirtazapin	5	30	30	900mg	+	>>0,1
Mirtazapin	26	54	54	1500mg	+	>0,1
Mirtazapin	39	5	5	150mg	+	>0,1
Olanzapin	9	Vormedikation	?	?	-	-
Olanzapin	10	7	46	105	-	-
Olanzapin	11	52	52	ca. 830mg	-	-
Olanzapin	32	20	20	200-400mg	-	-

Paroxetin	13	Dauermedikation	> 30	> 600mg	+	-
Perazin	2	2	15	100mg	+	n.quantifiz.
Promethazin	3	12	18	900-1200mg	+	0,15
Promethazin	4	4	23	100mg	+	<0,02
Promethazin	12	29	36	3625- 5800mg	+	>0,5
Promethazin	15	39	39	3900mg	+	0,5
Promethazin	21	Dauermedikation 167 Tage	167	ca. 25050mg	+	>0,5
Promethazin	23	Bedarfsmedikation 40 Tage	40	>1200mg	+	>0,5
Promethazin	24	15	47	1500mg	+	>0,5
Prothipendyl	2	15	15	1200mg	+	>0,2
Prothipendyl	15	15	15	600mg	+	<0,02
Prothipendyl	16	Dauermedikation 5 Jahre	5 Jahre	ca. 146000mg	+	>0,2
Prothipendyl	17	Dauermedikation	> 30	> 2400mg	+	0,12
Quetiapin	15	Dauermedikation	> 30	> 18000 mg	+	>0,5
Quetiapin	16	20	20	500-2000mg	+	0,14
Quetiapin	17	Dauermedikation	> 30	> 22500mg	+	>0,5
Quetiapin	29	62	103	74400	+	>0,5
Quetiapin	31	Vormedikation 130 Tage	130	ca. 156000mg	+	>>0,5
Risperidon	2	7	43	14mg	+	>0,5
Risperidon	3	27	27	216mg	+	0,4
Risperidon	10	34	34	136mg	+	0,15
Risperidon	12	7	55	28-42mg	-	-
Risperidon	18	11	23	66mg	+	0,09
Risperidon	21	Vormedikation Depot + p.o.	> 60	> 170mg	+	>0,5
Risperidon	22	35	35	70mg	+	0,07
Risperidon	24	49	49	392mg	+	>0,5
Risperidon	34	53	53	424mg	+	0,25
Risperidon	35	9	84	9-18mg	+	0,11
Risperidon	36	6	23	30mg	+	<0,02
Risperidon	37	27	42	135mg	+	0,05
Risperidon	40	2+Vormed.	>30	>180mg	+	0,05
Tramadol	34	21	53	ca. 930mg	+	>>0,15
Venlafaxin	2	14	14	2100mg	+	>>0,2
Zolpidem	18	24	24	180mg	+	n.quantifiz.

Die Einnahme von insgesamt 2040mg **Amitriptylin** im Rahmen einer Dauermedikation (34 Tage davon in domo) führte zu einem stark positiven Haarbefund mit Peakflächen weit über der höchsten noch linearen Konzentration von 0,5ng/mg; es ließ sich daher kein exakter quantitativer Wert bestimmen.

In allen 4 Haarproben war, nach Einnahme von insgesamt 216-536mg **Benperidol** über 18-39 Tage, der Extraktionsbefund positiv. In einem Fall wurde eine Konzentration von 0,02ng/mg bestimmt, bei den anderen drei lagen die Signalstärken weit über der höchsten noch linearen Konzentration von 0,15ng/mg; es ließen sich keine exakten quantitativen Werte bestimmen.

In 6 von 10 Haarproben wurde, nach **Biperideneinnahme** von insgesamt 3-416mg, ein positiver Befund erhoben. In einem Fall (Probe Nr. 6) lag die Peakfläche weit über der höchsten noch linearen Konzentration von 0,2ng/mg, bei den anderen 5 Positivbefunden lag sie unter der niedrigsten noch linearen Konzentration von 0,02ng/mg. Eine eindeutige Korrelation zwischen eingenommener Substanzmenge und nachgewiesener Haarkonzentration war nicht feststellbar.

In allen 5 Haarproben wurde, nach Einnahme von insgesamt 9600-31500mg **Carbamazepin** über 30-49 Tage, die Substanz im Extrakt nachgewiesen. Bei allen fünf lagen die Messwerte oberhalb des linearen Messbereiches.

Die Einnahme von insgesamt 80mg und 200mg **Chlorprothixen**, einmalig und bei Bedarf, führte in beiden Fällen zu einem positiven Haarbefund. Die Messwerte lagen unterhalb des linearen Messbereichs.

Die Einnahme von insgesamt 3250-16000mg **Clozapin** über durchschnittlich 30 Tage führte in allen 5 Fällen zu stark positiven Haarbefunden mit Werten, die z.T. weit über der höchsten noch quantifizierbaren Arbeitsbereichskonzentration von 0,2ng/mg lagen.

Die therapeutische Einnahme von insgesamt 100-1100mg **Diazepam** über mindestens 23 Tage führte in 8 Einnahmefällen zu positiven Ergebnissen in den Haaren. In 7 von 9 Fällen wurde auch der Diazepam-Metabolit Nordiazepam identifiziert. Die quantitative Auswertung der Diazepam-Befunde war in 4 von 9 Fällen möglich, die Werte liegen im Bereich von 0,05-0,08ng/mg. In den anderen Proben liegt die berechnete Haarkonzentration unter 0,05ng/mg und somit außerhalb des linearen Kalibrationsbereiches. **Nordiazepam** war in 5 von 7 Proben quantitativ auswertbar, die berechneten Konzentrationen liegen zwischen 0,05-0,15ng/mg. Es ist keine eindeutige Korrelation zwischen eingenommener Substanzmenge und nachgewiesener Haarkonzentration feststellbar.

Die Einnahme von insgesamt 2205mg **Doxepin** über 21 Tage führte zu einem stark positiven Haarbefund mit Signalstärken weit über der höchsten noch linearen Konzentration von 0,1ng/mg; es ließ sich also kein endgültiger quantitativer Wert festlegen.

80mg einmalig eingenommenes **Flunitrazepam** führte zu einem schwach positiven Haarbefund mit nicht mehr quantifizierbarem Wert < 0,05ng/mg.

Die Einnahme von insgesamt ca. 73000mg **Fluoxetin** im Rahmen einer Dauermedikation über ca. 5 Jahre führte zu einem positiven Haarbefund mit Signalstärken oberhalb des linearen Messbereiches (0,5ng/mg).

Die Einnahme von insgesamt mindestens 280mg **Flupentixol** im Rahmen einer Dauermedikation führte zu einem positiven Befund in Höhe von 0,4ng/mg. Als Depot verabreichte 90mg ließen sich im Haar mit einer Konzentration von 0,2ng/mg nachweisen.

Die Einnahme von insgesamt mindestens 1200mg **Fluphenazin** im Rahmen einer Dauermedikation führte zu einem positiven Extraktionsbefund von 0,05ng/mg.

In allen 16 Haarproben war nach Einnahme von insgesamt 10-680mg **Haloperidol** über 1-68 Tage der Analysebefund positiv. Es wurden quantitative Werte zwischen 0,05-0,5ng/mg ermittelt, ein Teil der Werte lagen oberhalb des linearen Messbereiches (0,5ng/mg).

Es wurde in allen 3 Fällen, nach Einnahme von insgesamt 500-1300mg **Levomepromazin** über mindestens 21 Tage, die Substanz in den Haaren nachgewiesen. Eine Quantifizierung war nicht möglich, da die Kalibration von Levomepromazin die Anforderungskriterien von Valistat nicht erfüllte.

In 14 von 22 Haarproben konnte nach Einnahme von **Lorazepam** über mindestens 5 Tage die Substanz im Haar nachgewiesen werden. In 7 Fällen lag die Signalstärke unterhalb des linearen Messbereichs (0,02ng/mg), die Quantifizierung der anderen ergab Werte zwischen 0,02 und 0,09ng/mg. Eine eindeutige Korrelation zwischen eingenommener Substanzmenge und nachgewiesener Haarkonzentration ist nicht feststellbar.

Die Einnahme von insgesamt 900mg und 1500mg **Mirtazapin** über 30 und 54 Tage führte in beiden Fällen zu einem positiven Haarbefund. Die Signalstärken lagen oberhalb des linearen

Messbereiches (0,1ng/mg). Der Nachweis gelang auch bei 5tägiger Einnahme von insgesamt 150mg (1 Fall).

Olanzapin konnte in keiner der 4 Haarproben, nach mindestens einwöchiger Einnahme von insgesamt 105-830mg, identifiziert werden.

Paroxetin wurde, nach Einnahme von insgesamt mindestens 600mg im Rahmen einer Dauermedikation zwar im Haar identifiziert, eine quantitative Auswertung war jedoch aufgrund fehlender Linearität der Kalibration nicht möglich.

Perazin wurde nach 2tägiger Einnahme von insgesamt 100mg zwar im Haar identifiziert, eine quantitative Auswertung war jedoch aufgrund fehlender Linearität in der Kalibration nicht möglich.

In allen 7 Haarproben wurde, nach Einnahme von insgesamt 100-25050mg **Promethazin** als Bedarfs-, Kurz- oder Dauermedikation, ein positiver Haarbefund nachgewiesen. In 4 Fällen lagen die Signalstärken weit oberhalb des linearen Messbereiches (0,5ng/mg). 2 Proben waren quantifizierbar (0,15ng/mg, 0,5ng/mg). Eine Probe erbrachte einen positiven Wert unterhalb des linearen Messbereiches.

In allen 4 Haarproben war, nach Einnahme von insgesamt 600-146000mg **Prothipendyl** über mindestens 15 Tage, der Substanznachweis im Extrakt positiv. In Probe Nr. 17 wurde eine Konzentration von 0,12ng/mg nachgewiesen. In zwei Fällen lagen die Signalstärken weit oberhalb des linearen Messbereiches (0,2ng/mg) und in einer Probe unterhalb des linearen Messbereiches (0,02ng/mg).

Die Einnahme von insgesamt 22500-156000mg **Quetiapin** führte in 4 von 5 Fällen zu stark positiven Haarbefunden mit Werten, die z.T. weit über der höchsten noch quantifizierbaren Arbeitsbereichskonzentration von 0,5ng/mg lagen. Für Probe 16 mit der niedrigsten Gesamtdosis (500-2000mg) über den kürzesten Zeitraum (20 Tage) wurde ein quantitativer Wert von 0,14ng/mg bestimmt. Es ist also ein grober Zusammenhang zwischen Einnahmedosis und quantitativem Wert vorhanden.

In 12 von 13 Haarproben wurde, nach **Risperidone**einnahme von insgesamt 9-424mg über mindestens eine Woche, ein positiver Befund erhoben. In 3 Fällen lagen die Signalstärken oberhalb des linearen Messbereiches (0,5ng/mg) und in einem unterhalb des linearen

Messbereiches (0,02ng/mg). Die Substanzkonzentrationen der anderen 8 Positivbefunde lagen zwischen 0,05 und 0,4ng/mg. Eine eindeutige Korrelation zwischen eingenommener Substanzmenge und nachgewiesener Haarkonzentration ist nicht feststellbar.

Die Einnahme von insgesamt 930mg **Tramadol** über 21 Tage führte zu einem stark positiven Haarbefund weit oberhalb des linearen Messbereiches (0,15ng/mg).

Die Einnahme von insgesamt 2100mg **Venlafaxin** über 14 Tage führte zu einem stark positiven Haarbefund oberhalb des linearen Messbereiches (0,2ng/mg).

Zolpidem wurde nach Einnahme von insgesamt 180mg über 24 Tage zwar im Haar identifiziert, eine quantitative Auswertung war jedoch aufgrund fehlender Linearität in der Kalibration nicht möglich.

5.7.6 Einmalige Aufnahme zentral wirksamer Arzneimittel

Es wurden Patientenhaare wie unter 4.3.2 beschrieben untersucht.

In 7 von 8 Fällen konnte bei einmaliger Einnahme der Substanz nach 20-30 Tagen ein positiver haaranalytischer Befund festgestellt werden. Haloperidol wurde in allen 3 Fällen der einmaligen psychiatrischen Akuttherapie (20-30mg) nachgewiesen und auch die singuläre Einnahme von 60mg Diazepam führte zu einem positiven Haarbefund. Chlorprothixen wurde nach einmaliger Verordnung von 200mg im Rahmen der akuten Therapie nachgewiesen. Ein Suizidversuch mit ca. 80mg Flunitrazepam führte zu einem positiven Flunitrazepambefund im Haar; Aminoflunitrazepam war nicht nachweisbar. Ergänzend zu den klinischen Fällen wurde eine Haarprobe untersucht, die postmortal aus dem Untersuchungsgut des Zentrums der Rechtsmedizin gewonnen wurde. Bei der Untersuchung stellte sich die Frage, ob dem Tötungsopfer im Rahmen einer angezeigten Vergewaltigung 4 Wochen vor dem Tod Doxylamin beigebracht wurde. Der Verdacht auf Doxylaminbeibringung wurde durch das positive Untersuchungsergebnis bestätigt. Die einmalige Einnahme von 3mg Biperiden führte nicht zum Nachweis von Biperiden im Haar. Die Ergebnisse sind in Tab. 16 im Anschluss aufgeführt.

Tabelle 16: Befunde nach einmaliger Einnahme

Vorfall	Substanz	Code	Dosis	Tage bis Entnahme	Nachweis
Akuttherapie	Biperiden	P24	1 x 3mg	34	-
Akuttherapie	Chlorprothixen	P8	1 x 200mg	20	+
Akuttherapie	Diazepam	P19	1 x 60mg	22	+
Akuttherapie	Haloperidol	P6	1 x 25mg	33	+
Akuttherapie	Haloperidol	P10	2 x 10mg	22	+
Akuttherapie	Haloperidol	P23	1 x 15mg	35	+
Suizidversuch	Flunitrazepam	P5	ca. 80mg	31	+
Vergewaltigung/Tötung	Doxylamin	L-965	unbemerkte Beibringung mit Getränk	30	+

5.8 Methodenvergleich der Auswerteprogramme

Die nachstehenden Ergebnisse dienen dem Vergleich von manueller Auswertung im Analyst, automatischer Quantifizierung mit Analyst und MFE. Der MFE-Algorithmus identifiziert die Peaks automatisch anhand ihrer Molekularmassen (Feinmassen) aus den komplexen Massenspektrographien des LC-TOF MS (Rohdaten, mhd-files). Es war daher von Interesse, inwieweit sich die Qualität der automatischen Auswertung mit der manuellen Auswertung vergleichen lässt.

5.8.1 Handintegration im Analyst

Vom definierten Arbeitsbereich wurden sowohl die underivatisierte, als auch die derivatisierte Sequenz manuell ausgewertet.

5.8.1.1 Abschätzung des Arbeitsbereichs Haarextrakte underivatisiert

Ablauf wie unter 4.3.1.2 beschrieben. Die Ergebnisse sind unter 5.2.2 in Tab. 1 zu finden.

Es konnten nahezu alle 51 Substanzen und ihre deuterierten Standards in 8 Konzentrationen zwischen 0,02 und 0,75ng/mg identifiziert werden. Einschränkender Umstand war eine schlechte chromatographische Auftrennung von Amphetamin, Codein und Dihydrocodein und verbreiterte Peaks bei Doxylamin, MDA, MDE, MDMA und Methamphetamin.

5.8.1.2 Abschätzung des Arbeitsbereichs Haarextrakte derivatisiert

Ablauf wie unter 4.3.1.2 beschrieben. Die Ergebnisse sind unter 5.2.4 zu finden.

Da 4 Substanzen sowohl in mittlerer Konzentration von 0,2 (bzw. 0,4ng/mg), als auch in der höchsten Konzentration nicht identifiziert werden konnten und die chromatographische Qualität einiger Peaks unzureichend war, wurde auf die zeitaufwendige manuelle Integration aller Konzentrationen verzichtet.

5.8.2 MFE

Die Auswertung mit dem Programm MFE erfolgte für derivatisierte und underivatisierte Arbeitsbereich-Sequenzen, die Nachweisgrenzen und die Patientenproben.

5.8.2.1 Arbeitsbereich underivatisiert

Es wurden die Daten der underivatisierten Arbeitsbereichsequenz (Versuch 4.3.1.2) mit dem MFE-Programm des Herstellers Agilent (Methode 4.3.6) ausgewertet. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Tab. 17 dargestellt.

Die in der Tabelle angegebenen Werte zeigen, ab welcher Konzentration die Substanz vom MFE identifiziert wurde.

Tabelle 17: Identifizierung und Überprüfung der Arbeitsbereiche auf Linearität mit MFE

Substanzen	MFE underiv. identifiziert	Arbeitsbereich linear	MFE derivatisiert identifiziert	Arbeitsbereich linear
6-Acetylcodein	-		-	
7-Amino-Flunitrazepam	-		-	
Amitriptylin	≥ 0,08 ng/mg	ja	≥ 0,5 ng/mg	-
Amphetamin	-		≥ 0,4 ng/mg prop	-
Benperidol	-		-	
Benzoyllecgonine	≥ 0,50 ng/mg	-	0,75 ng/mg	-
Biperiden	≥ 0,08 ng/mg	-	≥ 0,5 ng/mg	-
Bromazepam	-		-	
Carbamazepin	≥ 0,50 ng/mg	-	-	
Chlorprotixen	≥ 0,15 ng/mg	ja	0,75 ng/mg	-
Clozapin	≥ 0,50 ng/mg	-	-	
Cocaethylene	≥ 0,15 ng/mg	ja	≥ 0,5 ng/mg	-
Cocain	≥ 0,30 ng/mg	ja	≥ 0,3ng/mg	ja

Codein	-		≥ 0,5 ng/mg prop	-
Diazepam	≥ 0,50 ng/mg	-	-	
Dihydrocodein	-		≥ 0,5 ng/mg prop	-
Diphenhydramine	≥ 0,08 ng/mg	ja	-	
Doxepin	≥ 0,15 ng/mg	ja	0,75 ng/mg	-
Doxylamin	-		-	
Ecgoninemethylester	-		-	
Flunitrazepam	-		-	
Fluoxetine	≥ 0,15 ng/mg	ja	-	
Flupentixol	≥ 0,50 ng/mg	-	0,75 ng/mg prop	-
Fluphenazin	≥ 0,50 ng/mg	-	0,75 ng/mg prop	-
Haloperidol	≥ 0,20 ng/mg	-	-	-
Heroin	≥ 1 ng/mg	-	-	-
Levomepromazine	-		-	
Lorazepam	-		-	
6-MAM	-		≥ 0,5 ng/mg prop	-
MDA	-		-	
MDE	≥ 0,16 ng/mg	ja	≥ 1 ng/mg prop	-
MDMA	-		≥ 0,4 ng/mg prop	-
Methadon	≥ 0,20 ng/mg	ja	≥ 0,2 ng/mg	ja
Methamphetamin	-		≥ 0,4 ng/mg prop	-
Midazolam	≥ 0,20 ng/mg	-	-	
Mirtazapin	-		-	
Morphin	-		≥ 0,5 ng/mg 2prop	-
Nordiazepam	≥ 0,50 ng/mg	-	-	
Norflunitrazepam	-		-	
Olanzapin	-		-	
Oxazepam	-		-	
Paroxetin	≥ 0,50 ng/mg	-	-	
Perazin	-		-	
Promethazin	≥ 0,15 ng/mg	ja	-	
Prothipendyl	≥ 0,15 ng/mg	-	-	
Quetiapin	≥ 0,50 ng/mg	-	-	
Risperidon	≥ 0,50 ng/mg	-	≥ 0,5 ng/mg	-
Temazepam	-		0,75 ng/mg prop	-
Tramadol	≥ 0,15 ng/mg	ja	≥ 0,5 ng/mg prop	-
Venlafaxin	≥ 0,15 ng/mg	-	≥ 0,5 ng/mg prop	-
Zolpidem	≥ 0,15 ng/mg	ja	≥ 0,5 ng/mg	-

Mit MFE konnten insgesamt 36 von 51 Substanzen identifiziert werden (70,59%); 28 von 51 in der underivatisierten und 23 von 51 in der derivatisierten Sequenz. Derivatisiert lagen 15 der 23 identifizierten Substanzen in propionylierter Konfiguration vor. Lineare

Arbeitsbereiche und somit die Möglichkeit der Quantifizierung ergaben sich für 12 Substanzen im underivatisierten und für 2 Substanzen im derivatisierten Lauf.

5.8.2.2 Arbeitsbereich derivatisiert

Es wurden die Daten der derivatisierten Arbeitsbereichsequenz (Versuch 4.3.1.2) mit dem MFE-Programm des Herstellers Agilent (Methode 4.3.6) ausgewertet.

Es wurden 23 von 51 Substanzen in der derivatisierten Sequenz mittels MFE nachgewiesen. Es lagen 13 der 23 identifizierten Substanzen in propionylierter Konfiguration vor. Lineare Arbeitsbereiche und somit die Möglichkeit der Quantifizierung ergaben sich für 2 Substanzen.

Die in Tab. 17 unter 5.8.2.1 angegebenen Werte zeigen, ab welcher Konzentration die Substanz vom MFE identifiziert wurde.

5.8.2.3 Nachweisgrenzen MFE

Es wurden die Daten der Arbeitsbereich-Sequenz (Versuch 4.3.1.2) mit dem MFE-Programm des Herstellers Agilent (Methode 4.3.6) ausgewertet. Es wurden derivatisierte und underivatisierte Sequenzen ausgewertet. Da eine Auswertung der MFE-Daten mit Valistat aufgrund fehlender Linearität nicht sinnvoll war, wurden die niedrigsten von MFE identifizierten Konzentrationen hier als MFE-Nachweisgrenzen definiert. Diese sind nachfolgend in Tab. 18 den experimentell (manuell) ermittelten Nachweisgrenzen (siehe auch 5.5 mit Tab. 10) und den von Valistat bestimmten Nachweisgrenzen gegenübergestellt. Eine schriftliche Ausführung erfolgt im Anschluss an die Tabelle.

Tabelle 18: Gegenüberstellung der mit MFE, Valistat und experimentell ermittelten Nachweisgrenzen

Substanzen	NWG Valistat underivatisiert (ng/mg)	Experim. NWG underivatisiert (ng/mg)	NWG MFE underivatisiert (ng/mg)	NWG MFE PSA (ng/mg)
6-Acetylcodein	0,003	0,01	-	-
7-Amino-Flunitrazepam	-	0,01	-	-
Amitriptylin	0,003	0,004	0,08	0,5
Amphetamin	0,04	0,1	-	0,4 prop
Benperidol	0,002	0,01	-	-

Benzoyllecgonine	0,006	0,02	0,5	0,75
Biperiden	0,007	0,01	0,08	0,5
Bromazepam	0,003	0,015	-	-
Carbamazepin	0,01	0,02	0,5	-
Chlorprotixen	0,003	0,005	0,15	0,75
Clozapin	0,004	0,01	0,5	-
Cocaethylene	0,003	0,01	0,15	0,5
Cocain	0,009	0,01	0,3	0,3
Codein	0,008	0,01	-	0,5 prop
Diazepam	0,002	0,005	0,5	-
Dihydrocodein	0,02	0,01	-	0,5 prop
Diphenhydramine	0,007	0,01	0,08	-
Doxepin	0,004	0,008	0,15	0,75
Doxylamin	-	0,05	-	-
Ecgoninemethylester	-	0,01	-	-
Flunitrazepam	0,005	0,01	-	-
Fluoxetine	0,004	0,01	0,15	-
Flupentixol	0,01	0,01	0,5	0,75 prop
Fluphenazin	0,005	0,01	0,5	0,75 prop
Haloperidol	0,007	0,01	0,2	-
Heroin	0,004	0,01	1	-
Levomepromazine	-	0,02	-	-
Lorazepam	0,007	0,025	-	-
6-MAM	-	0,01	-	0,5 prop
MDA	0,03	0,02	-	-
MDE	0,007	0,02	0,16	1 prop
MDMA	0,03	0,04	-	0,4 prop
Methadon	0,007	0,006	0,2	0,2
Methamphetamin	-	0,02	-	0,4 prop
Midazolam	0,004	0,005	0,2	-
Mirtazapin	0,007	0,009	-	-
Morphin	-	0,05	-	0,5 2-prop
Nordiazepam	0,003	0,007	0,5	-
Norflunitrazepam	0,003	0,015	-	-
Olanzapin	-	0,01	-	-
Oxazepam	0,009	0,025	-	-
Paroxetin	0,006	0,01	0,5	-
Perazin	-	0,015	-	-
Promethazin	0,003	0,015	0,15	-
Prothipendyl	0,005	0,005	0,15	-
Quetiapin	0,005	0,01	0,5	-
Risperidon	0,008	0,01	0,5	0,5
Temazepam	0,009	0,015	-	0,75 prop

Tramadol	0,003	0,01	0,15	0,5 prop
Venlafaxin	0,003	0,006	0,15	0,5 prop
Zolpidem	-	0,02	0,15	0,5

Insgesamt konnten mittels MFE underivatisiert für 28 und derivatisiert für 23 Substanzen Nachweisgrenzen ermittelt werden. Die Derivatisierung bringt vor allem für die Quantifizierung der illegalen Drogen und ihrer Metabolite einen Vorteil: durch Propionylierung werden zusätzlich Amphetamin, Codein, Dihydrocodein, 6-MAM, MDA, Methamphetamin, Morphin und Temazepam vom MFE identifiziert. Der Vergleich zu den underivatisierten Nachweisgrenzen zeigt jedoch bei allen anderen derivatisierten Substanzen eine niedrigere Sensitivität, d.h. höhere Nachweisgrenzen nach Derivatisierung.

Die experimentell ermittelten Nachweisgrenzen für underivatisierte Sequenzen liegen für 24 von 28 Substanzen mindestens eine Zehnerpotenz unter den vom MFE berechneten.

Die niedrigsten experimentellen Nachweisgrenzen ohne Derivatisierung fanden sich für Amitriptylin, Chlorprothixen, Diazepam, Doxepin, Midazolam, Mirtazapin, Methadon, Nordiazepam, Prothipendyl und Venlafaxin mit Werten zwischen 0,004-0,009ng/mg. Die höchsten Werte wiesen Amphetamin, Doxylamin, MDMA und Morphin auf mit 0,04-0,1ng/mg. Die restlichen 37 Substanzen wiesen Nachweisgrenzen im Bereich von 0,01-0,025ng/mg auf.

Im Vergleich zu den manuell und mittels MFE „praktisch ermittelten“ Nachweisgrenzen, liegen die von Valistat bestimmten Werte häufig niedriger. Vorallem verglichen mit den MFE-Nachweisen liegt die Differenz meist im Bereich einer Zehnerpotenz. Es konnten hier aber für 10 Substanzen keine Werte bestimmt werden, da die Linearität nicht den von Valistat geforderten Kriterien entsprach.

5.8.2.4 Haarproben Psychiatrie

Es wurden die Daten der Patientenproben aus 4.3.2 mit dem MFE-Programm des Herstellers Agilent (Methode 4.3.6) ausgewertet. In nachfolgender Tab. 19 sind die MFE-Ergebnisse denen aus der manuellen Integration (ohne Auswertung mittels Analyst) gegenüber gestellt.

Tabelle 19: Befunde in Patientenhaaren mit MFE

Code	ingenommene Substanzen	manuell identifizierte Substanzen	mit MFE identifizierte Substanzen	manuell zusätzl. identif. Substanzen	MFE zusätzl. identif. Substanzen
1	Haloperidol Lorazepam	Haloperidol Lorazepam	Haloperidol -		
2	Carbamazepin Perazin Prothipendyl Risperidon Venlafaxin	Carbamazepin Perazin Prothipendyl Risperidon Venlafaxin	Carbamazepin Perazin Prothipendyl Risperidon Venlafaxin	Haloperidol - Quetiapin	- Promethazin -
3	Lorazepam Promethazin Risperidon	Lorazepam Promethazin Risperidon	- - Risperidon	Haloperidol	-
4	Haloperidol Levomepromazin Lorazepam Promethazin	Haloperidol Levomepromazin - Promethazin	Haloperidol - - -	Risperidon	-
5	Flunitrazepam Lorazepam Mirtazapin	Flunitrazepam - Mirtazapin	- - -	Cocain Diazepam Haloperidol	- - -
6	Biperiden Haloperidol Lorazepam	Biperiden Haloperidol -	Biperiden Haloperidol -	Risperidon	-
7	Diazepam	Diazepam	-	Haloperidol Nordiazepam	Haloperidol -
8	Chlorprothixen Diazepam Haloperidol Lorazepam	Chlorprothixen Diazepam Haloperidol Lorazepam	- - - -	Benperidol Carbamazepin Clozapin Nordiazepam Risperidon	- Carbamazepin - - -
9	Flupentixol Haloperidol Olanzapin	Flupentixol Haloperidol -	- Haloperidol -	Benperidol Carbamazepin Promethazin Risperidon	- - Promethazin Risperidon
10	Biperiden Diazepam Haloperidol Olanzapin Risperidon	- Diazepam Haloperidol - Risperidon	- - - -	Carbamazepin Nordiazepam	Carbamazepin -
11	Benperidol Biperiden Haloperidol Lorazepam Olanzapin	Benperidol Biperiden Haloperidol Lorazepam -	Benperidol - Haloperidol - -	Carbamazepin Promethazin	- -
12	Benperidol	Benperidol	Benperidol		

	Biperiden	Biperiden	-		
	Chlorprothixen	Chlorprothixen	-		
	Clozapin	Clozapin	-		
	Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol		
	Lorazepam	Lorazepam	-		
	Promethazin	Promethazin	Promethazin		
	Risperidon	-	-		
13a	Fluphenazin	Fluphenazin	-	Benperidol	-
	Levomepromazin	Levomepromazin	-	Haloperidol	Haloperidol
	Paroxetin	Paroxetin	-	Promethazin	Promethazin
				Risperidon	-
13b	Levomepromazin	Levomepromazin	-	Fluphenazin	-
	Paroxetin	Paroxetin	-	Haloperidol	Haloperidol
				Promethazin	-
				Risperidon	-
14a	Carbamazepin	Carbamazepin	Carbamazepin	Amitriptylin	Amitriptylin
				Benperidol	-
				Chlorprothixen	-
				Diazepam	-
				Haloperidol	-
				Levomepromazin	-
				Nordiazepam	-
				Paroxetin	-
				Promethazin	-
				Risperidon	Risperidon
				-	Tramadol
				Venlafaxin	Venlafaxin
				Zolpidem	-
14b	Carbamazepin	Carbamazepin	Carbamazepin	-	Amitriptylin
				Diazepam	-
				Haloperidol	-
				Nordiazepam	-
				Risperidon	Risperidon
				-	Tramadol
				Venlafaxin	Venlafaxin
15	Amitriptylin	Amitriptylin	Amitriptylin	Cocain	-
	Diazepam	Diazepam	-	Doxepin	-
	Levomepromazin	Levomepromazin	-	Nordiazepam	-
	Lorazepam	Lorazepam	-	Risperidon	Risperidon
	Promethazin	Promethazin	Promethazin	Venlafaxin	Venlafaxin
	Prothipendyl	Prothipendyl	-		
	Quetiapin	Quetiapin	Quetiapin		
16	Carbamazepin	Carbamazepin	Carbamazepin	Amitriptylin	Amitriptylin
	Fluoxetin	Fluoxetin	Fluoxetin	Benzoylecgonin	Benzoylecgonin
	Lorazepam	Lorazepam	-	Cocaethylen	Cocathylen
	Prothipendyl	Prothipendyl	Prothipendyl	Cocain	Cocain
	Quetiapin	Quetiapin	Quetiapin	Diazepam	Diazepam
				Doxepin	-
				Nordiazepam	-
				Promethazin	-

				Risperidon	-
				Venlafaxin	-
17a	Biperiden	Biperiden	-	Amitriptylin	-
	Diazepam	Diazepam	-	Carbamazepin	Carbamazepin
	Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol	Cocaethylen	-
	Prothipendyl	Prothipendyl	Prothipendyl	Cocain	Cocain
	Quetiapin	Quetiapin	Quetiapin	Fluoxetin	Fluoxetin
				Nordiazepam	-
				Promethazin	-
				Risperidon	-
17b	Biperiden	Biperiden	-	Amitriptylin	-
	Diazepam	Diazepam	-	Carbamazepin	-
	Prothipendyl	Prothipendyl	-	Cocain	-
	Quetiapin	Quetiapin	Quetiapin	Fluoxetin	Fluoxetin
				Haloperidol	-
				Nordiazepam	-
				Risperidon	-
18a	Benperidol	Benperidol	-	Amitriptylin	-
	Biperiden	Biperiden	-	Carbamazepin	-
	Lorazepam	Lorazepam	-	Diazepam	-
	Risperidon	Risperidon	-	Fluoxetin	-
	Zolpidem	-	-	Haloperidol	-
				Nordiazepam	-
				Promethazin	-
				Prothipendyl	-
				Quetiapin	Quetiapin
18b	Benperidol	Benperidol	-	Carbamazepin	-
	Risperidon	Risperidon	-	Diazepam	-
	Zolpidem	Zolpidem	-	Lorazepam	-
19	Diazepam	Diazepam	Diazepam	7-Aminofluni	7-Aminofluni
	Lorazepam	-	-	Benzoylecgonin	Benzoylecgonin
	Methadon	Methadon	Methadon	Cocaethylen	Cocaethylen
				Cocain	Cocain
				Doxepin	Doxepin
				Mirtazapin	Mirtazapin
20	Lorazepam	Lorazepam	-	Carbamazepin	Carbamazepin
				Dipenhydramin-	
				Methadon	-
21	Promethazin	Promethazin	Promethazin	Carbamazepin	-
	Risperidon	Risperidon	Risperidon	Cocain	-
				Diazepam	-
22a	Carbamazepin	Carbamazepin	Carbamazepin	Promethazin	-
	Diazepam	-	-		
	Haloperidol	Haloperidol	-		
	Risperidon	Risperidon	-		
22b	Carbamazepin	Carbamazepin		Promethazin	-
			Carbamazepin		
	Diazepam	Diazepam	-		
	Risperidon	Risperidon	-		

23a	Benperidol	Benperidol	-	Carbamazepin	-
	Clozapin	Clozapin	-	Levomepromazin	-
	Haloperidol	Haloperidol	-		
	Lorazepam	-	-		
	Promethazin	Promethazin	Promethazin		
23b	Benperidol	Benperidol	-	Benzoylecgonin	-
	Clozapin	Clozapin	-	Carbamazepin	-
	Haloperidol	Haloperidol	-	Cocain	-
	Promethazin	Promethazin	Promethazin		
24	Biperiden	-	-	Benperidol	-
	Clozapin	Clozapin	-	Haloperidol	-
	Lorazepam	Lorazepam	-		
	Promethazin	Promethazin	Promethazin		
	Risperidon	Risperidon	Risperidon		
25	Diazepam	Diazepam	-	Cocain	-
				Haloperidol	-
				Levomepromazin	-
				Nordiazepam	-
				Promethazin	-
				Quetiapin	-
			Risperidon	Risperidon	
26	Mirtazapin	Mirtazapin	-	Diazepam	-
				Risperidon	-
				Tramadol	-
27	Biperiden	Biperiden	-	Prothipendyl	-
	Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol	Risperidon	-
	Lorazepam	Lorazepam	-	Zolpidem	-
28	Clozapin	Clozapin	-	Chlorprothixen	-
				Diazepam	-
				Haloperidol	-
				Risperidon	-
29	Diazepam	-	-	Haloperidol	-
	Lorazepam	-	-	Nordiazepam	-
	Quetiapin	Quetiapin	Quetiapin	Prothipendyl	-
				Risperidon	-
30	Clozapin	Clozapin	-	Benperidol	-
	Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol	Diazepam	-
				Doxylamin	Doxylamin
				Levomepromazin	Levomepromazin
				Nordiazepam	-
				Promethazin	Promethazin
				Quetiapin	-
			Risperidon	Risperidon	
31	Biperiden	-	-	Carbamazepin	-
	Quetiapin	Quetiapin	Quetiapin	Clozapin	-
				Diazepam	-
				Haloperidol	Haloperidol
				Levomepromazin	-
			Nordiazepam	-	

				Promethazin Prothipendyl Risperidon	Promethazin -
32	Biperiden Haloperidol Lorazepam Olanzapin	- Haloperidol - -	- Haloperidol - -	Diazepam Promethazin Quetiapin Risperidon	- - - -
33a	Doxepin Lorazepam	Doxepin -	Doxepin -	6-Acetylcodein 6-MAM Amphetamin Benzoylecgonin Cocaethylen Cocain Haloperidol Methadon Morphin	- - - Benzoylecgonin - Cocain - Methadon -
33b	Doxepin Lorazepam	Doxepin -	- -	6-Acetylcodein 6-MAM Amphetamin Benzoylecgonin Cocaethylen Cocain Haloperidol Methadon Morphin	- - - Benzoylecgonin - Cocain - Methadon -
34	Lorazepam Risperidon Tramadol	Lorazepam Risperidon Tramadol	- Risperidon Tramadol	Benperidol Chlorprothixen Diazepam Doxepin Haloperidol Methadon Promethazin	- - - - - - -
35	Risperidon	Risperidon	-	Benperidol Cocain Haloperidol Methadon Tramadol	- - - - -
36	Risperidon	Risperidon	Risperidon	Haloperidol	Haloperidol
37	Haloperidol Lorazepam Risperidon	Haloperidol Lorazepam Risperidon	Haloperidol - Risperidon		
38	Flupentixol Haloperidol	Flupentixol Haloperidol	- Haloperidol	Risperidon Zolpidem	- Zolpidem
39	Carbamazepin Mirtazapin	Carbamazepin Mirtazapin	Carbamazepin Mirtazapin	Amitriptylin	-
40	Lorazepam Risperidon	Lorazepam Risperidon	- Risperidon	Haloperidol	Haloperidol

Insgesamt wurden 37% der eingenommenen Substanzen mit MFE nachgewiesen (54 von 147). Im Vergleich zu den manuell identifizierten eingenommenen Substanzen wurden von diesen ca. 43% auch mittels MFE nachgewiesen (54 zu 125). Von den manuell zusätzlich identifizierten Substanzen wurden 25% im MFE nachgewiesen (48 von 193). Es wurden in 14 von 47 Patientenproben (bzw. Haarabschnitten) alle manuell identifizierten eingenommenen Substanzen mit MFE nachgewiesen. In 14 Proben wurde keine Substanz identifiziert. In 4 Fällen identifizierte das MFE zusätzliche, in der extrem aufwendigen manuellen Integration übersehene Substanzen (in Probe Nr. 2 Promethazin, in 14a Tramadol und in 14b Amitriptylin und Tramadol).

6 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, ob sich die universell einsetzbare Detektionsmethode LC-TOF MS mit der universellen Extraktionsmethode zu einem einfachen, sensitiven, viele Substanzen umfassenden und schnell durchführbaren Haarscreeningverfahren kombinieren lässt. Es wurde die Häufigkeit des Nachweises von Substanzen im Kopfhair psychiatrischer Patienten nach therapeutischer Einnahme überprüft und Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für häufig verordnete Psychopharmaka ermittelt. Die Ergebnisse dieser Arbeit verschaffen einen Überblick über die Möglichkeit des Nachweises der verschiedenen Substanzen mit den eingesetzten Methoden.

Anhand der häufigen Nebenbefunde von nicht in der Verordnung angegebenen Arzneimitteln und illegalen Betäubungsmitteln wird die Relevanz eines standardisierten Haarscreenings bei psychiatrischen Patienten gezeigt. Bei klinischer Anwendung der Haaranalyse in der Psychiatrie könnten die Haarbefunde wichtige anamnestische Hinweise zu den behandelten Patienten geben, woraus sich unter Umständen andere Medikationen oder Zusatzuntersuchungen ergeben. Zum Beispiel bestehen bei regelmäßigem Drogenkonsum ganz andere Voraussetzungen für Psychotherapie und Compliance (vor allem hinsichtlich kontinuierlicher Arzneimiteleinnahe) sowie eine höhere Inzidenz internistischer und psychiatrischer Erkrankungen.

Vor dem Einsatz haaranalytischer Methoden in der Klinik muss die Zuverlässigkeit der Haarbefunde diskutiert werden. Diese ist einerseits von der Pharmakokinetik der eingenommenen Substanzen und andererseits von den verwendeten Haaraufarbeitungs-, Nachweis- und Auswertemethoden abhängig.

Relevanter als der Nachweis von Arzneimitteln nach ärztlicher Verordnung ist aus forensischer Sicht der Nachweis einer Substanz im Kopfhair des Opfers einer Straftat. Sämtliche Arzneimittel mit zentral dämpfender Komponente sind potentielle K.O.-Mittel, da sie die Widerstandsfähigkeit eines Opfers herabsetzen können. Die Haaranalyse gewinnt bei derartigen Delikten besondere Bedeutung, da häufig versäumt wird, zeitnah zur fraglichen Substanzaufnahme eine Blut- oder Urinprobe zu asservieren. Dem Opfer ist es dann nicht mehr möglich, die Aufnahme der Substanz zu dokumentieren. Es bleibt dann als einzige

Möglichkeit der Nachweis im Kopfhaar, der bei ausreichender Haarlänge theoretisch auch noch deutlich später möglich ist. Für den Nachweis einzelner Substanzen stehen Methoden wie die MS/MS-Methode zur Verfügung, die z.B. die einmalige Aufnahme von Gamma-Hydroxybutyrat (GHB, Liquid Ecstasy) sehr sensitiv nachweisen können (KINZ et al. 2007). Die Opfer können in der Regel jedoch keine bestimmte Substanz benennen, so dass es ausgesprochen wünschenswert wäre, eine sensitive Screeningmethode für zentral wirksame Arzneimittel in den Haaren zur Verfügung zu haben. Vorliegende Studie, die die Nachweisbarkeit von zentral wirksamen Arzneimitteln in den Haaren nach definierter ärztlicher Verabreichung überprüft, dient gewissermaßen als Vorstufe zu den Untersuchungen auf zentral wirksame Arzneimittel bei Strafdelikten.

6.1 Inkorporation von Substanzen ins Haar

Verschiedene Faktoren haben Einfluss auf die Einlagerung einer Substanz in die Haare. Schon im Blut sind interindividuell bei gleicher Einnahme unterschiedliche Medikamentenspiegel messbar (VERHO et al. 1988, KAUERT et al. 1988 und 1993, YUKAWA et al. 2003), was sich z.B. mit individuellem Resorptionsverhalten, unterschiedlicher Metabolisierungsaktivität oder auch medikamentösen Wechselwirkungen erklären lässt. Die Inkorporation von Substanzen in die Haarmatrix wiederum hängt vom Blutspiegel, der chemischen Struktur und der individuellen Haarbeschaffenheit ab. Es wird immer nur ein kleiner Anteil der im Blut zirkulierenden Substanz in die Keratinozyten aufgenommen, so dass die Konzentration im Haar wesentlich niedriger ist als im Blut (PÖTSCH et al. 2004). Für die Inkorporation stellen laut älterer Studien von LINDQUIST et al. (1973 und 1982), NAKAHARA et al. (1995) und PRAGST et al. (1997) Lipophilie, Basizität und Melaninaffinität die wichtigsten Faktoren dar. Belegt ist diese Tatsache auch in einer neueren Studie von TESTORF et al. (2001). Erklärbar wird dadurch auch die in dieser Arbeit gezeigte gute Nachweisbarkeit von Haloperidol im Haar aufgrund seiner Basizität. Die therapeutischen Haloperidolspiegel im Blut liegen mit 0,005-0,02mg/l (Schulz et al. 2003) vergleichsweise niedrig, trotzdem wurde Haloperidol in 100% der 16 untersuchten Einnahmefälle, in 100% nach einmaliger Einnahme (3 Fälle) und 22 mal als Nebenbefund identifiziert. Da Haloperidol in der Psychiatrie sehr häufig verordnet wird, könnte es bei einigen Patienten auch schon vor der stationären Aufnahme zum Einsatz gekommen sein. Es war nicht möglich, die untersuchten Haarabschnitte so exakt auf die Zeit

des stationären Aufenthaltes zuzuschneiden, dass nicht auch Zeiträume vor der Aufnahme erfasst worden wären. Es ist ebenfalls zu berücksichtigen, dass bereits entlassene Patienten häufig Rezidive aufweisen und auch innerhalb kurzer Zeiträume erneut in der Psychiatrie aufgenommen werden. Das würde die zahlreichen Haloperidolnachweise in Patientenhaaren ohne in der Patientenakte angegebene Medikation erklären können. Die Ergebnisse dieser Untersuchung, die auf ein sehr hohes Maß des Einbaus von Haloperidol in die Haare hinweisen, decken sich mit den Ergebnissen vorangegangener Studien von MATSUNO et al. (1990), NAKANO et al. (1994), COUPER et al. (1995) und SHEN et al. (2002).

Eine stärkere Bindungsaffinität von Substanzen für Proteine des Blutplasmas vermindert die Einlagerung in die Haarwurzel (Bsp.: Benzodiazepine). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass in sämtlichen 9 Fällen einer vorausgegangenen Verordnung die Substanz Diazepam zusammen mit ihrem Abbauprodukt Nordiazepam bei der manuellen Auswertung nachgewiesen werden konnte. Lorazepam hingegen, das niedriger dosiert wird als Diazepam, wurde in nur 14 von 22 Verordnungsfällen nachgewiesen. Das Flunitrazepamabbauprodukt Norflunitrazepam wurde nach einmaliger hoch dosierter Aufnahme von Flunitrazepam im Rahmen eines Suizidversuches im Bereich der Nachweisgrenze nachgewiesen. Die Screeningmethode erscheint daher zur Überprüfung einer missbräuchlichen Aufnahme von Benzodiazepinen, z.B. bei der Beurteilung einer Fahreignung nach vorangegangenem Arzneimittelmisbrauch, durchaus geeignet. Es ist jedoch nicht davon auszugehen, dass eine einmalige Beibringung im Rahmen einer Straftat sicher erfasst werden kann.

Aufgrund des höheren Melaningehaltes dunkler Haare im Vergleich zu blonden oder grauen Haaren können dunkle Haare relativ höhere Konzentrationen von Fremdsubstanzen enthalten. Zur Überprüfung dieses Sachverhaltes wurde die Haarfarbe der Patienten dokumentiert. Das Kollektiv war aber insgesamt zu klein, um eine Auswertung vornehmen zu können.

Ein Unsicherheitsfaktor für den Nachweiszeitraum liegt in der interindividuell variierenden Haarwuchsgeschwindigkeit, wobei von einer in Studien von PELFINI et al. (1969), MIYAZAWA und UEMATSU (1992) PÖTSCH et al. (1996), PRAGST et al. (1998), und PRAGST und BALIKOVA (2006) ermittelten durchschnittlichen Geschwindigkeit von 1,1 +/-0,2cm/Monat ausgegangen wird. Die initial aufgenommene Konzentration im Haar ändert sich nicht mehr, da hier kein Stoffwechsel stattfindet. Substanzkonzentrationen können aber durch äußere Einflüsse wie

Sonneneinstrahlung, Salzwasser, kosmetische Haarbehandlungen u.ä. gemindert werden (PÖTSCH et al. 1997, YEGLES et al. 2000, TANAKA et al. 2002). Aufgrund dieser vielen variablen Faktoren konnte in den meisten bisher veröffentlichten Arbeiten zu quantitativen Haarbestimmungen keine eindeutige Korrelation von Einnahmedosis und Haarkonzentration gezeigt werden. In der Literatur wurde wiederholt eine signifikante Dosis-Konzentrations-Beziehung bei Haaranalysen postuliert (Amphetamin: COOPER et al. 2000, Carbamazepin: TSATSAKIS et al. 1997, WILLIAMS et al. 1997 und 2001, MIECZKOWSKI et al. 2001, Cocain: FORMAN et al. 1992, KAUERT et al. 1996, PÉPIN et al. 1997, ELMAN et al. 2000, Clozapin + Chlorpromazin: SHEN et al. 2002, Haloperidol: MATSUNO et al. 1990, NAKANO et al. 1994, Heroin: BAUMGARTNER et al. 1979, CONE et al. 1990, NAKAHARA et al. 1992, GYGI et al. 1995, KAUERT et al. 1996, ROLLINS et al. 1996 und PÉPIN et al. 1997, Methamphetamin: NAKAHARA et al. 1995, Phenobarbital: GOULLÉ et al. 1995). Oft wird jedoch auch ein unregelmäßiger Einbau von Fremdstoffen ins Haar festgestellt (KINTZ et al. 1995, HENDERSON et al. 1996, GOULLÉ et al. 1997, ROTHE et al. 1997, HENDERSON et al. 1998, KINTZ et al. 1998, SCHMOLDT et al. 1999, CIRIMELE et al. 2000, GIROD et al. 2001 und WEINMANN et al. 2002). Bei Nachweisen von Psychopharmaka kommen noch erschwerend eine krankheitsbedingt geminderte Compliance und niedrige Dosierungen der Medikamente hinzu. So sind Rückschlüsse von detektierter Haarkonzentration auf die Einnahmemenge lediglich in Form einer groben Einschätzung möglich. Die Quantifizierung spielt bei der Beurteilung einer Aufnahme von zentral wirksamen Arzneimitteln jedoch auch keine große Rolle. Der Tatsache, dass die Aufnahme einer Substanz durch den Nachweis in den Haaren sicher bestätigt werden kann, kommt die weit höhere Bedeutung zu.

6.2 LC-TOF MS als Messverfahren

Die meisten der untersuchten Arzneimittel sind hochpotent zentral wirksam, d.h. die therapeutischen Spiegel im Blut und demzufolge auch die Konzentrationen in den Haaren sind sehr niedrig und mit herkömmlichen Methoden wie z.B. GC-MS kaum nachzuweisen. Wie die ermittelten Nachweisgrenzen (5.5 und 5.6) zeigen, konnten mit LC-TOF MS auch sehr geringe Konzentrationen von Substanzen im Haar noch sensitiv nachgewiesen werden. Dabei wurden erhebliche Unterschiede in der Nachweisempfindlichkeit zwischen den einzelnen Substanzen festgestellt.

Neben der Nachweisempfindlichkeit für einzelne Analyte beschäftigt sich diese Arbeit aber auch mit der Möglichkeit eines breiten Screenings auf zentral wirksame Arzneimittel und Betäubungsmittel. Bei den gebräuchlichen Methoden, wie z.B. gaschromatographischen Untersuchungen auf unterschiedliche Substanzgruppen, sind oft zusätzliche spezielle Haaraufarbeitungsmethoden sowie spezielle Derivatisierungen erforderlich, um alle gewünschten Arzneimittel detektieren zu können. Die für die Untersuchungen dieser Dissertation verwendete Kombination von Methanolextraktion mit HPLC / hochauflösendem Flugzeitmassenspektrometer ermöglicht Screeninguntersuchungen mit relativ geringem Arbeitsaufwand. Für Bestimmungen psychiatrischer Arzneimittel ist eine einzige Haaraufarbeitung nötig. Nur im Fall eines Btm-Screenings sollte, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, zusätzlich ein mit Propionsäureanhydrid derivatisierter Extrakt hergestellt werden. Für die Praxis kann das bedeuten, dass zunächst der underivatisierte Extrakt mit LC-TOF untersucht wird und der Extrakt danach propionyliert wird. So lassen sich anschließend auch jene Betäubungsmittel sensitiv erfassen, die underivatisiert eine schlechte chromatographische Trennung boten. Da sich in den Versuchen 5.2.2 und 5.2.3 kein relevanter Unterschied in der Auswertung zwischen den mit isopropanolischer Salzsäure und den mit Propionsäure + DMAP versetzten Haarextrakten zeigte, können diese gleichsinnig und auswechselbar eingesetzt werden - je nachdem, ob eine spätere Derivatisierung zur Btm-Detektion geplant ist oder nicht. Der gleiche Probenextrakt wird auf diese Weise 2mal analysiert und der Rohdatenauswertung mit automatischen Identifizierungs- und Quantifizierungsprogrammen zugeführt. Zusatzbestimmungen weiterer Substanzen können auch später noch anhand dieser Rohdaten vorgenommen werden, dies stellt einen weiteren Vorteil gegenüber GC-MS oder MS/MS-Methoden dar. Kritisch diskutiert werden müssen allerdings die Spezifität, die Haaraufarbeitungs- und die Auswertemethoden, sowie die Quantifizierungsmöglichkeiten von LC-TOF MS.

Bezüglich der Empfindlichkeit des Substanznachweises ist zwischen manueller und programmgesteuerter Integration zu unterscheiden. Die manuelle Identifikation von Substanzen ist sehr spezifisch, da mit kleinen Varianzbereichen Feinmasse, Retentionszeit, Peakhöhe, Peakkonfiguration und Ionenkromatogramme von Substanzen und ISTDs abgeglichen und beurteilt werden (siehe 4.3.5). So konnten manuell 100% der 51

underivatisierten Substanzen aus dotierten Leerhaaren nach methanolische Extraktion identifiziert werden (siehe 5.2.2).

Die Ergebnisse von Auswerteprogrammen basieren auf den manuell bestimmten Retentionszeiten der Substanzen, welche sich mit unterschiedlichen Analysemethoden (variable TOF-Einstellungen), Laufmitteln oder LC-Säulen ändern können. Es muss also nach jeder Änderung einer dieser Variablen eine manuelle Neubestimmung der Retentionszeiten aller gesuchten Substanzen erfolgen. Eine Liste der aktuellen Zeiten ist Voraussetzung einer Auswertung mit Validierungs- (Valistat) und Quantifizierungsprogrammen (Analyst, MFE).

Die Kriterien des Auswertungsprogrammes Analyst sind weniger streng, d.h. die erlaubten Abweichungen von Normbereichen sind weiter gestreut als bei der manuellen Integration, um eine höhere Sensitivität zu erreichen. Es wurden daher mittels Analyst gelegentlich Substanzen in niedrigen Konzentrationen identifiziert, bei denen die chromatographischen Befunde den manuell geforderten Kriterien nicht mehr entsprachen (siehe 5.2.2). Vom MFE hingegen wurden häufig Positivbefunde übersehen, welche alle Kriterien der manuellen Identifizierung erfüllten (Bsp. MFE-Auswertung 5.8.2). Es kann allerdings von der Richtigkeit positiver Befunde im MFE ausgegangen werden, da mittels MFE identifizierte Substanzen der manuellen Überprüfung in allen Fällen standhielten. Vor allem im Fall einer großen Anzahl von zu untersuchenden Haarproben, erspart das MFE zeitlichen Arbeitsaufwand.

6.3 Haaraufarbeitung

Um eine Extraktion von Substanzen aus der Haarmatrix zu erreichen, gibt es verschiedene etablierte Methoden. Entweder können die Haare vor der Extraktion z.B. mittels enzymatischer Verdauung (CIRIMELE et al. 1996, YEGLES et al. 1997, VAN DEN HAUWE et al. 2005, FAVRETTO et al. 2006) oder mit Natronlauge aufgelöst werden. Alternativ zur Auflösung können die Haare auch zur Erzeugung einer größeren Oberfläche gemahlen oder mit der Schere zerkleinert werden. Letztere Variante kam vor der für diese Arbeit durchgeführten Extraktion mit Methanol zur Anwendung.

Die Extraktion kann alternativ auch mit Puffer durchgeführt werden. Während bei der Extraktion mit Puffer noch ein anschließender Aufreinigungsschritt (in der Regel über eine

Festphase) nötig ist und bei den Auflösungsmethoden ebenfalls eine anschließende Extraktion z.B. mit organischem Lösungsmittel erfolgt, ist bei der Extraktion mit Methanol nur ein einziger Schritt notwendig. Der erhaltene Extrakt wird einfach eingedampft und anschließend analysiert. Das Verfahren hat den Vorteil, dass sehr viele verschiedenen Analyte (saure und basische) in Methanol gelöst vorliegen, während der zweite Schritt bei den anderen Verfahren neben zusätzlichem Arbeitsaufwand auch Verluste von Analyten mit sich bringt.

Die Methanolextraktion hat den Nachteil, dass der Extrakt sehr stark mit Matrix beladen ist. Dieser Umstand führt bei der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Analyse immer wieder zu Problemen, weil der „Dreck“ die Chromatographie stören kann. Die Beladung mit Matrix machte sich bei der Auftrennung mittels HPLC hingegen kaum bemerkbar.

Da die Matrixbeladung die Chromatographie nicht störte, entstand der Gedanke, das zeitaufwändige Zerschneiden der Haare durch ein enzymatisches Verdauungsverfahren zu umgehen. Die wässrige Haarlösung könnte dann direkt mit dem LC-TOF analysiert werden. Der Vorversuch (5.1) mit Proteinase K zeigte jedoch, dass die Haarstruktur enzymatisch nur unvollständig aufgelöst wurde. Das Lysat war so trübe, dass nicht ernsthaft erwogen werden konnte, es direkt einzuspritzen. Die methanolische Extraktion nach KAUERT und RÖHRICH (1997) erscheint daher als sinnvollere Kombination zur Analyse mit LC-TOF MS.

6.4 Derivatisierung im Vergleich zum underivatisierten Extrakt

Zum Methodenvergleich der Derivatisierung durch Propionsäureanhydrid mit Untersuchung des underivatisierten Extraktes lässt sich zusammenfassen, dass durch die Derivatisierung vor allem die Betäubungsmittel Amphetamin, Codein, Dihydrocodein, 6-MAM und Methamphetamin profitieren. Die Analyse der anderen untersuchten Medikamente nahm durch die Propionylierung stark an Qualität und Genauigkeit ab. Aus Gründen, die nicht ermittelt werden konnten, ließen sich 4 Substanzen (Bromazepam, MDA, Olanzapin, Promethazin) nach Derivatisierung per Handintegration weder in propionylierter noch in underivatisierter Form nachweisen. Auch im direkten Vergleich der Nachweissensitivität schnitten wieder die underivatisierten Proben deutlich besser ab. Daher erfolgte die Analyse der Patientenhaare nur noch unter Zugabe von isopropanolischer Salzsäure.

6.5 Vergleich manueller Auswertung mit Analyst zu der automatischen Auswertung mit MFE

Die Auswertung der Rohdaten kann manuell oder mit einem der Quantifizierungsprogramme von Analyst, sowie mit MFE erfolgen. Trotz weniger strenger Identifikationskriterien liegt die Spezifität der Programme niedriger, da chromatografisch schlecht getrennte Peaks (sehr flach oder zerrissen) nicht erkannt werden, bei leichter Verschiebung der Retentionszeiten keine Anpassung an die Retentionszeit des ISTDs erfolgt und in der automatischen Quantifizierung von Analyst nicht nach Feinmassen, sondern nur nach Molekülmassen mit einer Nachkommastelle gesucht wird. Im Rahmen dieser Arbeit ließen sich die 51 zugegebenen Substanzen im underivatisierten Haarextrakt in mittleren Konzentrationen von 0,2 (bzw. 0,4)ng/mg Haar nach manueller Auswertung mit Analyst zu 100%, mit MFE nur zu 55% (28 von 51) nachweisen. Derivatisiert war manuell ein Nachweis von 92% der zugegebenen Substanzen in mittlerer Konzentration von 0,2 (bzw. 0,4)ng/mg möglich, mittels MFE wurden nur 45% (23 der 51) Substanzen erkannt. Die Messungen wurden mit der 2005 aktuellen Version des MFE durchgeführt, welche mittlerweile vom Hersteller überarbeitet und vor allem im Bereich der Peakerkennung optimiert wurde. Neueren laborinternen Messungen zufolge werden mit der neuen MFE-Version deutlich mehr Substanzen identifiziert und es können meist auch lineare Arbeitsbereiche und die Nachweisgrenzen bestimmt werden.

Das Quantifizierungsprogramm von Analyst identifizierte alle underivatisierten Substanzen in Konzentrationen von 0,02 – 0,75ng/mg (bzw. 0,04 – 1,5ng/mg für 7 weniger empfindlich erfasste Substanzen), wobei der berechnete lineare Messbereich substanzabhängig sehr unterschiedlich breit war. Derivatisiert wurden nur 41 Substanzen in diesen Konzentrationen identifiziert und ein linearer Arbeitsbereich bestimmt.

Mittels MFE wurden insgesamt 36 von 51 Substanzen (70,59%) nachgewiesen; 28 von 51 Substanzen in der underivatisierten und 23 von 51 in der derivatisierten Sequenz. Lineare Arbeitsbereiche und somit die Möglichkeit der Quantifizierung ergaben sich für 12 Substanzen im underivatisierten und für 2 Substanzen im derivatisierten Lauf. Die Nachweis-Sensitivität lag bei MFE im Vergleich zur manuellen Integration niedriger (siehe 5.8.2.3, Tab. 18), es wurden z.B. Feinmassen-Peaks < 1000 counts (Bsp.: underivatisiertes 7-Aminoflunitrazepam, Levomepromazin, Perazin) nicht ausgewertet. Asymmetrische

chromatographische Signale, wie z.B. von underivatisiertem Amphetamin, Codein, Dihydrocodein, 6-MAM, MDMA, Methamphetamin oder Mirtazapin werden von MFE, trotz genau parallel verlaufendem zugeordnetem ISTD-Signal, nicht erkannt. Insgesamt konnte festgestellt werden, dass bei positivem Substanznachweis durch das MFE, dieser Nachweis auch zuverlässig war.

Die niedrigsten von MFE erkannten Konzentrationen wurden als MFE-Nachweisgrenzen definiert. Diese wurden den experimentell (manuell) ermittelten Grenzwerten gegenüber gestellt. Insgesamt konnten mittels MFE underivatisiert für 28 und derivatisiert für 23 Substanzen Nachweisgrenzen ermittelt werden. Die Derivatisierung bringt vor allem für die Quantifizierung der illegalen Drogen und ihrer Metabolite einen Vorteil: durch Propionylierung werden zusätzlich Codein, Dihydrocodein, 6-MAM, Amphetamin, Methamphetamin, MDA, Morphin und Temazepam vom MFE identifiziert. Der Vergleich zu den underivatisierten Nachweisgrenzen zeigt jedoch bei allen anderen derivatisierten Substanzen eine niedrigere Sensitivität, d.h. höhere Nachweisgrenzen nach Derivatisierung.

Die experimentell ermittelten Nachweisgrenzen für underivatisierte Sequenzen liegen für 24 von 28 Substanzen mindestens eine Zehnerpotenz unter den vom MFE berechneten. Die niedrigsten experimentellen Nachweisgrenzen ohne Derivatisierung fanden sich für Amitriptylin, Chlorprothixen, Diazepam, Doxepin, Methadon, Midazolam, Mirtazapin, Nordiazepam, Prothipendyl und Venlafaxin mit Werten zwischen 0,004-0,009ng/mg. Die höchsten Werte wiesen Amphetamin, Doxylamin, MDMA und Morphin mit 0,04-0,1ng/mg auf. Die restlichen 37 Substanzen waren alle bis in den Bereich von 0,01-0,025ng/mg nachweisbar.

Im direkten Vergleich von MFE mit der manuellen Auswertung der Patientenhaarproben wurden mit MFE wesentlich weniger eingenommene und nebenbefundlich detektierte Substanzen identifiziert. Insgesamt wurden 37% der eingenommenen Substanzen mit MFE nachgewiesen (54 von 144). Im Vergleich zu den manuell identifizierten eingenommenen Substanzen wurden 43% auch mittels MFE nachgewiesen (54 von 125). Von den manuell zusätzlich identifizierten Substanzen wurden 25% im MFE nachgewiesen (48 von 193). Es wurden in 14 von 47 Patientenhaaren alle manuell identifizierten eingenommenen Substanzen mit MFE nachgewiesen. In 14 Proben wurde keine Substanz identifiziert. In 4 Fällen

identifizierte das MFE zusätzliche, in der extrem aufwendigen manuellen Integration übersehene Substanzen.

6.6 Methodvalidierung

Die Basisvalidierung mit Valistat erfolgte nach den Richtlinien der Fachgesellschaft GTFCh. Es wurden die Bestimmungs- und Nachweisgrenzen für derivatisierte und underivatisierte Substanzen ermittelt. Es konnten jeweils 41/51 Substanzen validiert werden, unabhängig davon, ob es sich um underivatisierte oder propionylierte Extrakte handelte. Die Nachweisgrenzen für underivatisierte Proben liegen bei 35 von 51 Substanzen im Bereich von 0,002-0,009ng/mg und bei 6 Substanzen zwischen 0,01 und 0,04ng/mg. Die Nachweisgrenzen für derivatisierte Proben liegen bei 6 von 51 Substanzen im Bereich von 0,003-0,008ng/mg und bei 35 Substanzen zwischen 0,01 und 0,08ng/mg. Es ist also insgesamt ein Verlust der Nachweisempfindlichkeit durch den Derivatisierungsvorgang festzustellen. Für folgende 10 Substanzen konnten underivatisiert aufgrund fehlender Linearität und Validität keine Nachweisgrenzwerte bestimmt werden: 7-Aminoflunitrazepam, Doxylamin, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, 6-MAM, Methamphetamin, Morphin, Olanzapin, Perazin und Zolpidem. Ebenfalls für 10 Substanzen konnten derivatisiert keine Nachweisgrenzwerte bestimmt werden (Benperidol, Bromazepam, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, MDA, Norflunitrazepam, Olanzapin, Oxazepam, Perazin und Promethazin). Vier Substanzen davon (Bromazepam, MDA, Olanzapin und Promethazin) waren nach Derivatisierung auch manuell nicht mehr identifizierbar. Die Bestimmungsgrenzen underivatisierter und derivatisierter Proben liegen ziemlich genau eine Zehnerpotenz über ihren Nachweisgrenzen.

Im direkten Vergleich mit derivatisierten Proben liegen die Nachweis- und Bestimmungsgrenzwerte der underivatisierten bei 25 der 51 Substanzen (49%) ca. eine Zehnerpotenz niedriger. Daran zeigt sich eine deutliche Abnahme der Nachweis-Sensitivität nach Derivatisierung. Für 6 Substanzen machte die Derivatisierung eine Validierung erst möglich und im Fall von Dihydrocodein wurde eine niedrigere Nachweisgrenze nach Derivatisierung ermittelt. Bei 9 Substanzen hat die Aufarbeitungsmethode kaum Einfluss auf die Nachweisbarkeit, während z.B. Benzodiazepine sehr in ihrer Nachweisbarkeit

beeinträchtigt werden. Bei Benperidol, Bromazepam, MDA, Norflunitrazepam und Oxazepam war derivatisiert keine Bestimmung eines linearen Arbeitsbereiches mehr möglich, welche underivatisiert hingegen gelang. Insgesamt konnten für 4 von 51 Substanzen (Ecgoninmethylester, Levomepromazin, Olanzapin, Perazin) gar keine Nachweis- und Bestimmungsgrenzen bestimmt werden.

Die mit Valistat errechneten Nachweisgrenzen liegen bei 61% der underivatisierten Substanzen niedriger als die experimentell ermittelten Nachweisgrenzen (= niedrigste noch nachweisbare Konzentration mittels manueller Integration, welche die unter 4.3.5 festgelegten Identifikationskriterien noch erfüllt). Die Differenz beträgt bei 14 von 41 validierbaren Substanzen eine Zehnerpotenz, bei 11 Substanzen ist der experimentell ermittelte Wert doppelt so hoch und bei 16 Substanzen sind die Nachweisgrenzen vergleichbar (vgl. Tab. 18 unter 5.8.2.3). Eine Ursache für die mittels Valistat ermittelten niedrigeren Nachweisgrenzen im Vergleich zur manuellen Integration ist in der Differenz zwischen statistischer Berechnung und praktischer Ausführung zu suchen, da Valistat die Grenzwerte aus nur einer Regressionsgeraden berechnet. Diese simuliert unter Umständen idealisierte Bedingungen, so dass in anderen Sequenzen eine unsauberere Chromatographie die Auswertung erschwert und die experimentelle Nachweisgrenze höher liegt. Auch sind die Integrationsbedingungen des Quantifizierungsprogrammes weniger strikt, da die Molekülmasse für einen Match nur auf eine Nachkommastelle genau stimmen muss und die Retentionszeit kein Bewertungskriterium darstellt. Statistisch gesehen sollte der Nachweis also bis zu sehr niedrigen Konzentrationen möglich sein, dies gelingt aber nach den strengen Kriterien der manuellen Integration nicht immer.

Für 14 der untersuchten illegalen Betäubungsmittel/Metabolite existieren Qualitätsstandards nach den Richtlinien der GTFCh und DIN EN ISO/IEC 17025 bezüglich der Anforderungen an die Nachweisempfindlichkeit forensischer Bestätigungsmethoden in der Haaranalytik (siehe 2.4). In den underivatisierten Sequenzen unterschritten 10 Substanzen die geforderten Nachweisgrenzen von 0,1 bzw 0,2ng/mg. Für die restlichen 4 Substanzen (6-MAM, Ecgoninmethylester, Methamphetamin, Morphin) ließen sich aufgrund fehlender Linearität mit Valistat keine Nachweisgrenzen berechnen, hier liegen nur experimentell ermittelte Daten (Tab.10, 5.5) vor. Auch diese lagen niedriger als die geforderten Werte. Für die meisten

anderen der untersuchten Substanzen liegen bislang keine Qualitätsanforderungen hinsichtlich der erforderlichen Nachweisempfindlichkeit vor.

In der derivatisierten Sequenz unterschritten 13 Betäubungsmittel die von der GTFCh geforderten Werte. Durch die Propionylierung ließen sich auch 6-MAM, Methamphetamin und Morphin validieren, für Ecgoninmethylester jedoch war aufgrund fehlender Linearität der Regressionsgeraden keine Bestimmung eines Arbeitsbereiches möglich. Für die genannten Substanzen verbessert die Derivatisierung die Nachweisbarkeit oder macht sie überhaupt erst möglich, so dass für die Laborpraxis die Derivatisierung bei Untersuchung von Haarproben auf Btm durchaus sinnvoll erscheint.

6.7 Haarbefunde

Durch die Untersuchung von 47 Haarproben psychiatrischer Patienten wurde die für einen laborchemischen Nachweis mit der verwendeten Methode LC-TOF MS ausreichende Inkorporation von Psychopharmaka in das Haar in 87% bestätigt. Auffallend waren die vielen zusätzlich identifizierten Substanzen in Patientenproben, welche nicht in der Medikationsliste aufgeführt waren (insgesamt 193 Zusatzbefunde). Möglicherweise können für diese Befunde nicht erwähnte Vortherapien oder ambulante Verordnungen verantwortlich sein. Besonders aufgrund des psychiatrischen Patientenkontextes sind auch Selbstmedikation oder Missbrauch von Substanzen nicht unwahrscheinlich. Diese Annahme wird durch einige Zusatzbefunde von Betäubungsmitteln gestützt, wie z.B. den 12-maligen Nachweis von Cocain in Patienten-Haarproben. Auch Amphetamin, Methadon und Morphin und ihre Metabolite konnten vereinzelt nachgewiesen werden und ein Suizidversuch durch Einnahme von Flunitrazepam führte zu einem positiven Befund in den Haaren.

Negativbefunde trotz angeordneter Medikation könnten neben einer zu geringen Nachweisempfindlichkeit auch durch eine Verweigerung der Einnahme bzw. Täuschung des kontrollierenden Pflegepersonals erklärt werden. Die Bereitschaft, Medikamente mit starken Nebenwirkungen einzunehmen, ist schon in der Durchschnittsbevölkerung relativ gering ausgeprägt. Psychische Erkrankungen mindern die Compliance zur regelmäßigen Arzneimittelaufnahme zusätzlich. Die Bedeutung dieses Zusammenhangs darf jedoch nicht überschätzt werden, da das Personal erfahren und die Medikamenteneinnahme sehr streng

kontrolliert ist. Eine weitere Erklärung bietet die wirkstoffabhängige Einlagerung ins Haar, welche sich mit chemischen Eigenschaften wie Basizität, Lipophilie und Melaninaffinität verändert (NAKAHARA et al. 1995 und ROTHE et al. 1997).

Als Beispiel für ein in den Untersuchungen dieser Arbeit gar nicht in Patientenhaaren nachgewiesenes Medikament sei Olanzapin genannt. 4 Patienten hatten Gesamtdosen von 105-830mg eingenommen und einen negativen Haarbefund, obwohl experimentell relativ niedrige Nachweisgrenzen für Olanzapin in den Haaren ermittelt wurden (0,01) und die Substanz sensitiv erfasst wird. Erklärung dafür bieten alle zuvor diskutierten Möglichkeiten, zumal sich auch in der Literatur keine Angaben zu Olanzapin-Nachweisen im Haar finden lassen (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007).

Die Ergebnisse der Substanznachweise zeigten keine eindeutige Korrelation von eingenommener Arzneimitteldosis und dem quantitativen Haarbefund. Ein Ausnahmebeispiel bildet Biperiden. Hier ließen sich geringere Einnahmemenge von 3-36mg (4 Fälle) in der Haaranalyse nicht nachweisen, bei den 6 Patienten mit einer eingenommenen Gesamtdosis von 52-416mg war der Haarbefund hingegen positiv. Das könnte für eine nötige Mindesteinnahme von 50mg Biperiden sprechen, um einen positiven Haarbefund in der manuellen Integration zu erzeugen, respektive eine Haarkonzentration oberhalb der experimentellen Nachweisgrenze von 0,01ng/mg zu erreichen. Für endgültige Aussagen ist das untersuchte Patientenkollektiv von 10 Patienten jedoch zu klein. In der Literatur sind bislang keine Angaben über den Nachweis von Biperiden in Haaren vorhanden (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007).

Die Einnahme von insgesamt 22500-156000mg Quetiapin führte zu stark positiven Haarbefunden mit Werten, die weit über der höchsten noch quantifizierbaren Arbeitsbereichkonzentration von 0,5ng/mg lagen (4 Fälle). In einer Probe mit niedrigerer Gesamtdosis (500-2000mg) über den kürzesten Zeitraum (20 Tage) wurde ein quantitativer Wert von 0,13ng/mg bestimmt. Für Quetiapin ist also im Ansatz eine Korrelation zwischen Einnahmedosis und quantitativem Wert erkennbar. Für die Feststellung einer Korrelation sind die Patientenzahlen pro einzelne Substanz aufgrund der vielen untersuchten Wirkstoffe zu gering. In der Literatur finden sich keine Angaben über den Nachweis von Quetiapin in Haaren (NCBI Pub med, Stand: Juli 2007).

Für Risperidon dagegen wurde nach Einnahme von insgesamt 9-424mg über mindestens eine Woche in 12 von 13 Haarproben ein positiver Befund erhoben. Die Substanzkonzentrationen der Befunde lagen meist zwischen 0,05 - 0,5ng/mg oder höher. Eine Korrelation zwischen eingenommener Substanzmenge und nachgewiesener Haarkonzentration war nicht feststellbar. In der Literatur sind zwar Nachweise von Risperidon in Haaren publiziert (MC CLEAN et al. 2000 und DOHERTY et al. 2007), die Daten wurden jedoch nicht quantitativ ausgewertet.

Die positiven Cocain-Zusatzbefunde wiesen fast alle eine niedrigere Konzentration als 1ng/mg auf. Laut Qualitätsstandard der GTFCh ist bei positivem Cocainbefund unterhalb eines Cut-Off-Wertes von 1ng/mg eine Befundbestätigung durch Nachweis von Metaboliten (Benzoyllecgonin, Cocaethylen, Norcocain) erforderlich. Es ließen sich 6 von 12 Cocainbefunden durch den Nachweis von Metaboliten (Benzoyllecgonin, Cocaethylen) bestätigen, was die zuvor erwähnte Hypothese von häufigerem Drogenabusus bei psychiatrischen Erkrankungen stützt.

In einigen Fällen waren Substanzen im Vergleich zu den Angaben der Literatur sehr viel niedriger konzentriert im Haar nachweisbar (z.B. Haloperidol). Flupentixol hingegen entspricht, mit gefundenen Konzentrationen von 0,2-0,5ng/mg bei Dauermedikation mit 280mg oder Depot, in etwa den von MC CLEAN et al. (2000) und WEINMANN et al. (2002) veröffentlichten Werten von 0,22 und 0,011ng/mg. Auch die für Lorazepam, Diazepam und Nordiazepam bestimmten Werte sind mit denen von CIRIMELE et al. (1996 und 1997) und KRONSTRAND et al. (2002) vergleichbar. Für viele in Patientenhaaren sehr niedrig konzentriert detektierte Substanzen existieren keine Vergleichswerte in der Literatur (Fluphenazin, Promethazin, Prothipendyl, Benperidol, Biperiden, Risperidon, Quetiapin). Diese wurden bisher nur in anderen Matrices, vor allem im Serum, untersucht und nachgewiesen.

Aufgrund des sehr breiten Konzentrationsspektrums von Substanzen in den Haaren nach therapeutischer Einnahme lagen in einigen Fällen die quantitativen Befunde außerhalb des linearen Konzentrationsbereiches. Im Fall von Amitriptylin, Benperidol, Biperiden, Carbamazepin, Clozapin, Doxepin, Fluoxetin, Haloperidol, Mirtazapin, Promethazin, Prothipendyl, Quetiapin, Risperidon, Tramadol und Venlafaxin wurden Werte oberhalb der höchsten noch quantifizierbaren Konzentration ermittelt, bei Biperiden, Chlorprothixen,

Diazepam, Flunitrazepam, Lorazepam, Promethazin, Prothipendyl und Risperidon niedrigere als die unterste noch lineare Konzentration.

Exakte quantitative Werte wurden für Benperidol (0,02ng/mg), Diazepam (0,05-0,08ng/mg), Flupentixol (0,2-0,4ng/mg), Fluphenazin (0,05ng/mg), Haloperidol (0,05-0,5ng/mg), Lorazepam (0,02-0,09ng/mg), Methadon (0,17ng/mg), Nordiazepam (0,05–0,15ng/mg), Promethazin (0,15-0,5ng/mg), Prothipendyl (0,12ng/mg), Quetiapin (0,14ng/mg) und Risperidon (0,05-0,4ng/mg) in Patientenhaaren bestimmt. Dem entsprechende quantitative Werte aus Haaren wurden bisher nur für einige Substanzen (Benzodiazepine, illegale Betäubungsmittel, Haloperidol u. a.) publiziert.

Ob die einmalige Einnahme eines Medikamentes einen positiven Haarbefund verursacht, wurde bisher in Studien von CIRIMELE et al. (1996), NEGRUSZ et al. (1999 und 2000), TOYO'OKA et al. (2003), KINTZ et al. (2004) und TÖNNES et al. (2007) untersucht, es ließen sich jedoch nicht in allen Fällen die eingenommenen Arzneimittel im Haar nachweisen. Einen fehlenden Nachweis von Benzodiazepinen nach einmaliger Einnahme trotz niedriger ermittelter Nachweisgrenze zeigten die Studien von NEGRUSZ et al. (1999) und KINTZ et al. (2004).

In der vorliegenden Arbeit wurde in 7 von 8 Fällen nach mindestens 20-30 Tagen ein positiver haaranalytischer Befund festgestellt. Haloperidol wurde in allen 3 Fällen der einmaligen psychiatrischen Akuttherapie (20-30mg) nachgewiesen und Chlorprothixen nach einmaliger Einnahme von 200mg. Diazepam verursachte nach einmaliger Einnahme von 60mg einen positiven Haarbefund. Ein Suizidversuch mit ca. 80mg Flunitrazepam wurde im Haar belegt und der Verdacht auf Doxylaminbeibringung im Rahmen einer Straftat ließ sich postmortal durch positive Ergebnisse bestätigen. Nach einmaliger Einnahme von 3mg Biperiden ließ sich die Substanz mit der gewählten Methode nicht im Haar identifizieren.

Um Vergleiche über die Nachweisbarkeit der einzelnen Substanzen im Haar ziehen zu können, sind weitere klinische Studien mit Nachweisen zentral wirksamer Arzneimittel in Patientenhaaren wünschenswert.

7 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Analyse von Haaren auf ihren Gehalt an zentral-nervös wirksamen Substanzen mittels LC-TOF MS (Flüssigkeitschromatographie + hochauflösendes Flugzeitmassenspektrometer) einige Vorteile gegenüber alternativen Detektionsmethoden wie z.B. GC-MS (Gaschromatographische Massenspektrometrie) oder GC MS/MS aufweist. Es wurden 51 verschiedene Substanzen untersucht, wobei vor allem die in psychiatrischen Kliniken häufig verordneten Neuroleptika, Antidepressiva, Opioide und einige andere zentral wirksame Arzneimittel vertreten sind. Zusätzlich wurden die im forensischen Screening gelisteten illegalen Betäubungsmittel untersucht. Der Substanznachweis erfolgte nach der Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen und des linearen Arbeitsbereiches im Rahmen einer klinischen Studie am Kopfhaar psychiatrischer Patienten. Folgende Substanzen wurden untersucht: 6-Acetylcodein, 7-Amino-Flunitrazepam, Amitriptylin, Amphetamin, Benperidol, Benzoyllecgonin, Biperiden, Bromazepam, Carbamazepin, Chlorprothixen, Clozapin, Cocaethylen, Cocain, Codein, Diazepam, Dihydrocodein, Diphenhydramin, Doxepin, Doxylamin, Ecgoninmethylester, Flunitrazepam, Fluoxetin, Flupentixol, Fluphenazin, Haloperidol, Heroin, Levomepromazin, Lorazepam, 3,4-Methylendioxyamphetamin (MDA), 3,4-Methylendioxy-N-ethylamphetamin (MDE), 3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin (MDMA), Methadon, Methamphetamin, Midazolam, Mirtazapin, 6-Monoacetylmorphin (6-MAM), Morphin, Nordiazepam, Norflunitrazepam, Olanzapin, Oxazepam, Paroxetin, Perazin, Promethazin, Prothipendyl, Quetiapin, Risperidon, Temazepam, Tramadol, Venlafaxin und Zolpidem.

Der Vergleich der enzymatischen Substanzextraktion aus der Haarmatrix mit der Methanolextraktion nach KAUERT und RÖHRICH (1997) spricht eindeutig für die methanolische Haaraufarbeitung. Die Beantwortung der Frage, ob die Proben mit Propionsäureanhydrid derivatisiert oder underivatisiert zu besseren Untersuchungsergebnissen führen, hängt vom Spektrum der zu suchenden Substanzen ab. Insgesamt ließ sich bei den Psychopharmaka ein Sensitivitätsverlust nach Derivatisierung feststellen. Dies reichte bis zur fehlenden Nachweisbarkeit von 4 Substanzen, welche underivatisiert problemlos detektiert wurden. Werden also zentral wirksame Medikamente untersucht, empfiehlt sich die Derivatisierung nicht. Essentiell wichtig ist sie jedoch, wenn es um den Nachweis von Drogen

und ihrer Metabolite geht, da diese sonst chromatographisch nicht ausreichend aufgetrennt werden (Bsp.: Codein, Morphin, 6-MAM, 7-Aminoflunitrazepam) oder flüchtig sind (Bsp.: Amphetamin, Methamphetamin). Die manuelle Auswertung der chromatographischen Daten ist sehr sensitiv und spezifisch, aber für eine Screeninguntersuchung zu zeitaufwändig. Die automatische Integration mit den Quantifizierungsprogrammen Analyst und MFE erscheint bei idealen chromatographischen Signalen als gute Alternative zur Reduktion des Arbeitsaufwandes, zeigte jedoch Einbußen im Falle von Überlagerungen mit anderen Signalen, niedrigen Substanzkonzentrationen oder chromatographischen Problemen. Bei der Anwendung dieser automatischen Auswertungen im Rahmen eines Screenings können daher in Spuren enthaltene oder chromatographisch schlechter auftrennbare Substanzen übersehen werden. Aus diesem Grund sollte bei dringendem Verdacht auf die Einnahme oder Beibringung einzelner Wirkstoffe im Rahmen forensisch-toxikologischer Fragestellungen eine manuelle Nachkontrolle der Daten auf übersehene Substanzen angestrebt werden. Die Basisvalidierung der gewählten Konzentrationsbereiche nach GTFCh-Richtlinien mit Valistat war sowohl derivatisiert als auch underivatisiert bei jeweils 41 der 51 Substanzen durchführbar. Die Nachweisgrenzen für underivatisierte Proben liegen bei 35 von 51 Substanzen im Bereich von 0,002-0,009ng/mg und bei 6 Substanzen zwischen 0,01 und 0,04ng/mg. Die Nachweisgrenzen für derivatisierte Proben liegen bei 6 von 51 Substanzen im Bereich von 0,003-0,008ng/mg und bei 35 Substanzen zwischen 0,01 und 0,08ng/mg.

Für 14 der untersuchten illegalen Betäubungsmittel/Metabolite existieren Qualitätsanforderungen nach den Richtlinien der GTFCh und DIN EN ISO/IEC 17025 bezüglich der Nachweisempfindlichkeit forensischer Bestätigungsmethoden in der Haaranalytik. In den derivatisierten Sequenzen unterschritten 13 Substanzen die geforderten Nachweisempfindlichkeiten von 0,1 bzw 0,2ng/mg. Für Ecgoninmethylester ließen sich aufgrund fehlender Linearität mit Valistat keine Grenzwerte berechnen, hier liegen nur experimentell ermittelte Daten vor. Auch diese lagen niedriger als die geforderten Werte. Für die meisten ärztlich verordneten Substanzen liegen keine allgemein gültigen Mindestanforderungen vor. Auch in der Literatur sind nur für wenige Substanzen haaranalytische Nachweisgrenzen anderer Autoren zu finden.

Für 7-Aminoflunitrazepam, Doxylamin, Ecgoninmethylester, Levomepromazin, 6-MAM, Methamphetamin, Morphin, Olanzapin, Perazin und Zolpidem konnten underivatisiert keine linearen Arbeitsbereiche bestimmt werden. Bei den genannten Substanzen konnten somit auch keine Nachweis- und Bestimmungsgrenzen nach den Richtlinien der Fachgesellschaft festgelegt werden. Es erfolgte jedoch eine zusätzliche Bestimmung „experimenteller Nachweisgrenzen“, wobei die niedrigsten manuell noch identifizierbaren Konzentrationen einer underivatisierten Sequenz angegeben sind. Es wurden hierfür die explizit aufgeführten Kriterien der manuellen Integration angewendet. Die niedrigsten experimentellen Nachweisgrenzen fanden sich für Amitriptylin, Chlorprothixen, Diazepam, Doxepin, Methadon, Midazolam, Mirtazapin, Nordiazepam, Prothipendyl und Venlafaxin mit Werten zwischen 0,004-0,009ng/mg. Die höchsten Werte wiesen Amphetamin, Doxylamin, MDMA und Morphin auf mit 0,04-0,1ng/mg. Die restlichen 37 Substanzen waren alle bis in den Bereich von 0,01-0,025ng/mg nachweisbar. Die manuell ermittelten Nachweisgrenzen liegen z.T. eine Zehnerpotenz höher als die mit Valistat berechneten, nur 66% der Werte stimmen in etwa überein. Dieser Sachverhalt kann auf die Differenz zwischen statistischen Berechnungen und praktischer Ausführung zurückgeführt werden, zumal Valistat die Grenzwerte aus nur einer Regressionsgeraden berechnet. Diese simuliert unter Umständen idealisierte Bedingungen, so dass in anderen Sequenzen eine schlechtere chromatographische Auftrennung die Auswertung erschwert und die experimentelle Nachweisgrenze höher liegt.

Die 47 untersuchten Haarproben psychiatrischer Patienten wurden aufgrund der besseren Nachweisbarkeit der Arzneimittel underivatisiert aufgearbeitet. Die für einen laborchemischen Nachweis mittels LC-TOF MS ausreichende Inkorporation von Psychopharmaka in das Haar wurde in 87% (125/144 Einnahmen) bestätigt. In allen Einnahmefällen nachgewiesen wurden 23 Substanzen: Haloperidol (16 Fälle), Diazepam (9 Fälle), Promethazin (7 Fälle), Carbamazepin (5 Fälle), Clozapin (5 Fälle), Quetiapin (5 Fälle), Benperidol (4 Fälle), Prothipendyl (4 Fälle), Levomepromazin (3 Fälle), Chlorprothixen (2 Fälle), Flupentixol (2 Fälle), Mirtazapin (2 Fälle) und in jeweils einem Fall Amitriptylin, Doxepin, Flunitrazepam, Fluoxetin, Flupentixol, Fluphenazin, Methadon, Paroxetin, Perazin, Tramadol, Venlafaxin und Zolpidem. Lorazepam wurde nur in 14 von 22 Fällen nachgewiesen, Risperidon in 12 von 13 und Biperiden in 6 von 10 Fällen. Die geringere

Einnahmemenge Biperiden von insgesamt 3-36mg in 4 Fällen ließ sich in der Haaranalyse nicht belegen; bei den 6 Patienten mit einer eingenommenen Gesamtdosis von 52-416mg war der Haarbefund positiv. Bei Lorazepam und Risperidon hingegen lässt sich kein Zusammenhang zwischen den negativen Befunden und niedrigeren Dosierungen feststellen. In Patientenhaaren gar nicht nachgewiesen wurde Olanzapin (0 von 4 Fällen), das in Gesamtdosen von 105-830mg eingenommen worden war. Für negative Haarbefunde trotz Einnahme können niedrige Medikamentenspiegel im Blut, eine geringe Aufnahme der Moleküle ins Haar oder chemische Instabilität der Substanz im Haar verantwortlich sein.

Auffallend waren die vielen zusätzlich identifizierten Substanzen in Patientenproben (insgesamt 193 Nebenbefunde), welche nicht in der Medikationsliste aufgeführt waren. In 12 Haarproben wurden illegale Betäubungsmittel festgestellt.

Diese Arbeit bestätigt insgesamt den schon von COUPER et al. 1995 postulierten großen Informationsgehalt haaranalytischer Untersuchungen bezüglich der Medikamentenanamnese von Patienten.

Die Eignung des LC-TOF MS als Screeningmethode für die Haaruntersuchung auf zentral wirksame Arzneimittel wird durch die Untersuchungsergebnisse belegt. Die noch sehr zeitaufwändige Datenauswertung der dargestellten Messreihen könnte zukünftig durch Weiterentwicklung und Verbesserung der Software sicher deutlich optimiert werden.

8 Summary

This study shows considerable advantages for hair analyses with LC-TOF MS (liquid chromatography combined with high resolution time of flight mass spectrometry) compared to alternative standard detection methods like GC-MS (gas chromatographic mass spectrometry). 51 of the most commonly used pharmaceuticals in psychiatry were investigated, such as neuroleptics, antidepressants, opiates and other psychotropics. These drugs, and the standard spectrum of illegal narcotics, were screened in scalp hair of psychiatric patients within a clinical study after the determination of limits of detection and quantification and linearity of working range. The demonstrated drug agents are: 6-acetylcodeine, 7-amino-flunitrazepam, amitriptyline, amphetamine, benperidol, benzoylecgonine, biperidene, bromazepam, carbamazepine, chlorprothixene, clozapine, cocaethylene, cocaine, codeine, diazepam, dihydrocodeine, diphenhydramine, doxepin, doxylamine, ecgoninemethylester, flunitrazepam, fluoxetine, flupenthixol, fluphenazine, haloperidol, heroine, levomepromazine, lorazepam, 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine (MDE), 3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine (MDMA), methadone, methamphetamine, midazolam, mirtazapine, 6-monoacetylmorphine (6-MAM), morphine, nordiazepam, norflunitrazepam, olanzapine, oxazepam, paroxetine, perazine, promethazine, prothipendyl, quetiapine, risperidone, temazepam, tramadol, venlafaxine and zolpidem.

Comparing the method of enzymatic lyses of hair matrix to methanolic extraction published by KAUERT and RÖHRICH (1997), the findings clearly argue for methanolic hair preparation. The optimal chemicals assay treatment, whether derivatisation of the extract with propionic acid anhydride or underivatised analysis, depends on the spectrum of substances being searched for. Generally a loss of sensitivity was determined in cases of derivatisation with propionic acid anhydride. Four substances even couldn't be detected at all after derivatisation, whereas they were clearly detected in underivatised sequences. Regarding regular psychiatric medication there is clearly no reason to recommend derivatisation. However, it becomes an important treatment if there is a need for detection of drugs and their metabolites because these drugs don't show well-defined peaks in chromatography in absence of propion acid anhydride (e.g. codeine, morphine and 6-MAM or norflunitrazepam) or seems to be quite

volatile (e.g. amphetamine, methamphetamine). Manually operated evaluation of chromatographic data is a very sensitive and specific procedure, but too time-consuming, especially in case of wide-spread screening. The automatically done peak integration by quantification programs like Analyst or MFE appeared to be a good alternative to accelerate the identification process, but only if chromatographic signals are clear and strong enough to be accepted. These programs failed as soon as there were suboptimal conditions for integration, such as overlap by other signals, very low concentration of substances or atypical peak configurations. This could lead to unreliable results in hair analysis if programs would be used for substance screening because many of the positive results would possibly be ignored. Therefore, manual follow-up examinations searching for single missed substances can be recommended in events of specific forensic toxicological problems.

Validation requirements according to GTFCh guidelines range were met for 41 of 51 substances with or without derivatisation. The limit of detection was determined for 35 non-derivatised substances in the range of 0,002-0,009ng/mg and for 6 substances between 0,01 and 0,04ng/mg. In case of derivatisation limit values of substances lie between 0,003 and 0,008ng/mg for 6 substances and between 0,01-0,08ng/mg for 35 drugs.

There is a quality standard for 14 of illegal narcotic drugs and metabolites referring to GTFCh-guidelines and DIN EN ISO/IEC 17025, concerning sensitivity of detection for forensic toxicological methods of hair analysis. In derivatised sequences 13 substances fell below the required limit of sensibility of 0,1 and 0,2ng/mg. Only in the case of ecgoninemethylester a validation was not possible, because of base linearity. The Valistat program could not calculate limiting values, thus, only manually acquired integration data is provided. These manual ones also undercut the postulated limits of detection. For most psychiatric pharmaceuticals neither a universally minimum requirement, nor any evidence in literature for a minimal level of detection exists.

It was not possible to define the linear working range without derivatisation for 7-amino-flunitrazepam, doxylamine, ecgoninemethylester, levomepromazine, 6-MAM, methamphetamine, morphine, olanzapine, perazine and zolpidem. Because they did not meet the criteria for linearity, the limits of detection and quantification for these substances, according to GTFCh-guidelines couldn't be determined. Instead, so-called "experimental

limits of detection” are provided, what means the lowest non-derivatised concentrations, identified by manual integration. For this purpose, the criteria itemized in 4.3.5 were considered. Lowest experimental limits of detection with values between 0,004 and 0,009ng/mg were proved for amitriptyline, chlorprothixen, diazepam, doxepin, methadone, midazolam, mirtazapine, nordiazepam, prothipendyl and venlafaxine. Highest limiting values from 0,04-0,1ng/mg were established for amphetamine, doxylamine, MDMA and morphine. All of the remaining 37 substances could be detected at the 0,01-0,025ng/mg experimental limits of detection. Manual integration shows one decimal power higher limiting values compared to Valistat-calculation, only 66% of the data is concordant. This circumstance can be ascribed to the difference between statistical calculation and practical accomplishment, first of all because Valistat calculates the limiting values on database of only one regression line. This may pretend idealized terms and can cause higher experimental limiting values in cases of hindered detection (worse separation of substances in chromatography) in other sequences.

The 47 hair samples of psychiatric patients were prepared without derivatisation because of superior detection conditions. Sufficient incorporation of centrally effective drugs, what means providing evidence in laboratory for the elected method, was proven in 87% (125 of 144 intakes). 23 pharmaceuticals were detected in all patients on intake: haloperidol (16 cases), diazepam (9 cases), promethazine (7 cases), carbamazepine (5 cases), clozapine (5 cases), quetiapine (5 cases), benperidol (4 cases), prothipendyl (4 cases), levomepromazine (3 cases), chlorprothixene (2 cases), flupenthixol (2 cases), mirtazapine (2 cases) and in single cases amitriptyline, doxepin, flunitrazepam, fluoxetine, flupenthixol, fluphenazine, methadone, paroxetine, perazine, tramadol, venlafaxine and zolpidem. Just 14 of 22 intakes of lorazepam were proved in hair, 6 of 10 biperidene and 12 of 13 risperidone applications. The lower intake of biperidene (at large 3-36mg, 4 patients) could not be verified in hair samples, whereas six patients with a cumulative dose of 52-416mg had a positive confirmation in hair. There was no concordance of low-dose treatment and negative results of patients having lorazepam and risperidone. No detection in patients' hair was possible in 4 cases of olanzapine therapy with a cumulative dose of 105-830mg. Responsible for negative outcomes,

despite controlled intake may possibly be due to low drug levels in blood, minimal uptake of molecules in hair or chemical instability of substances.

Conspicuous, however, was the great number of additionally identified substances in the samples, which were not mentioned in the medication schedule (193 added findings). Illegal narcotic drugs were found in 12 patients. This study reinforces conclusions of authors such as COUPER et al. (1995), that hair analysis can reveal a lot of interesting information about the patients past pharmaceutical intake.

In conclusion, this study shows the eligibility of LC-TOF MS as a screening method for investigations of the centrally effective drugs in hair samples. The very time-consuming evaluation of data might be simplified by further development and improvement of appropriate software in the future.

9 Literaturverzeichnis

- AEBI, B., STURNY-JUNGO, R., BERNHARD, W., BLANKE, R. and R. HIRSCH 2002, Quantitation using GC-TOF-MS: example of bromazepam, *Forensic Sci. Int.* 128 (1-2), S. 84-89
- ALLEN, D.L. and J.S. OLIVER 2000, The use of supercritical fluid extraction for the determination of amphetamines in hair, *Forensic Sci. Int.* 107 (1-3), S. 191-199
- BAUMGARTNER, A.M., JONES, P.F., BAUMGARTNER, W.A. and C.T. BLACK 1979, Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories, *J. Nucl. Med.* 20 (7), S. 748-752
- BAUMGARTNER, W.A., HILL, V.A. and W.H. PATIL 1977, Hair analyses for drugs of abuse, *J. Forensic Sci.* 34, S. 1433-1453
- BAWEJA, R., SOKOLOSKI, T.D. and P.N. PATIL 1977, Competitive binding between cocaine and various drugs to synthetic levodopa melanin, *J. Pharm. Sci.* 66 (11), S. 1544-1547
- BLAU, K. and HALKET, J.M. 1994, *Handbook of Derivatives for Chromatography*, John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore
- BOURLAND, J.A., HAYES, E.F., KELLY R.C., SWEENEY, S.A. and M.M. HATAB 2000, Quantitation of cocaine, benzoylecgonine, cocaethylene, methylecgonine, and norcocaine in human hair by positive ion chemical ionization (PICI) gas chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Anal. Toxicol.* 24 (7), S. 489-495
- CHEZE, M., VILLAIN, M. and G. PÉPIN 2004, Determination of bromazepam, clonazepam and metabolites after a single intake in urine and hair by LC-MS/MS. Application to forensic cases of drug facilitated crimes, *Forensic Sci. Int.* 145 (2-3), S. 123-130
- CIRIMELE, V., KINTZ, P. and P. MANGIN 1996, Determination of chronic flunitrazepam abuse by hair analysis using GC-MS-NCI, *J. Anal. Toxicol.* 20 (7), S. 596-598

- CIRIMELE, V., KINTZ, P. and P. MANGIN 1996, Detection and quantification of lorazepam in human hair by GC-MS/NCI in a case of traffic accident, *Int. J. Legal Med.* 108 (5), S. 265-267
- CIRIMELE, V., KINTZ, P. and P. MANGIN 1996, Comparison of different extraction procedures for drugs in hair of drug addicts, *Biomed. Chromatogr.* 10 (4), S. 179-182
- CIRIMELE, V., KINTZ, P. and B. LUDES 1997, Screening for forensically relevant benzodiazepines in human hair by gas chromatography-negative ion chemical ionization-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 700 (1-2), S. 119-129
- CIRIMELE, V., KINTZ, P., STAUB, C. and P. MANGIN 1997, Testing human hair for flunitrazepam and 7-amino-flunitrazepam by GC/MS-NCL, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 189-200
- CIRIMELE, V., KINTZ, P., GOSSELIN, O. and B. LUDES 2000, Clozapine dose-concentration relationships in plasma, hair and sweat specimens of schizophrenic patients, *Forensic Sci. Int.* 107 (1-3), S. 289-300
- CIRIMELE, V., KINTZ, P., DORRAY, S. and B. LUDES 2002, Determination of chronic abuse of the anaesthetic agents midazolam and propofol as demonstrated by hair analysis, *Int. J. Legal Med.* 116 (1), S. 54-57
- CLAUWAERT, K.M., VAN BOCXLAER, J.F., LAMBERT, W.E. and A.P. DE LEENHEER 2000, Segmental analysis for cocaine and metabolites by HPLC in hair of suspected drug overdose cases, *Forensic Sci. Int.* 110 (3), S. 157-166
- CONE, E.J. 1990, Testing human hair for drugs of abuse. I. Individual dose and time profiles of morphine and codeine in plasma, saliva, urine, and beard compared to drug-induced effects on pupils and behavior, *J. Anal. Toxicol.* 14 (1), S. 1-7
- CONE, E.J., YOUSEFNEJAD, D., DARWIN, W.D. and T. MAGUIRE 1991, Testing human hair for drugs of abuse. II. Identification of unique cocaine metabolites in hair of drug abusers and evaluation of decontamination procedures, *J. Anal. Toxicol.* 15 (5), S. 250-255

- CONE, E.J., DARWIN, W.D. and W.L. WANG 1993, The occurrence of cocaine, heroin and metabolites in hair of drug abusers, *Forensic Sci. Int.* 63 (1-3), S. 55-68
- COOPER, G.A., ALLEN, D.L., SCOTT, K.S., OLIVER, J.S., DITTON, J. and I.D. SMITH 2000, Hair analysis: self-reported use of "speed" and "ecstasy" compared with laboratory findings, *J. Forensic Sci.* 45 (2), S. 400-406
- CORDERO, A. and S. PATERSON 2000, Simultaneous quantification of opiates, amphetamines, cocaine and metabolites and diazepam and metabolite in a single hair sample using GC-MS, *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* 850 (1-2), S. 423-431
- COUPER, F.J., MC INTYRE, I.M. and O.H. DRUMMER 1995, Detection of antidepressant and antipsychotic drugs in postmortem human scalp hair, *J. Forensic Sci.* 40 (1), S. 87-90
- COUPER, F.J., MC INTYRE, I.M. and O.H. DRUMMER 1995, Extraction of psychotropic drugs from human scalp hair, *J. Forensic Sci.* 40 (1), S. 83-86
- DI GREGORIO, G.J., BARBIERI, E.J., FERKO, A.P. and E.K. RUCH 1993, Prevalence of cocaethylene in the hair of pregnant women, *J. Anal. Toxicol.* 17 (7), S. 445-446
- DI GREGORIO, G.J., BARBIERI, E.J., FERKO, A.P., BARBIERI, E.J., RUCH, E.K., CAHWLA, H., KEOHANE, D., ROSENSTOCK, R. and A. ALDANO 1994, Determination of cocaine usage in pregnant women by a urinary EMIT drug screen and GC-MS analyses, *J. Anal. Toxicol.* 18 (5), S. 247-250
- DOHERTY, B., RODRIGUEZ, V., LESLIE, J.C., MC CLEAN, S. and W.F. SMYTH 2007, An electrospray ionisation tandem mass spectrometric investigation of selected psychoactive pharmaceuticals and its application in drug and metabolite profiling by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 21 (13), S. 2031-2038
- EL MAHJOUR, A. and C. STAUB 2001, Determination of benzodiazepines in human hair by on-line high-performance liquid chromatography using a restricted access extraction column, *Forensic Sci. Int.* 123 (1), S. 17-25

- ELMAN, I., KRAUSE, S., BREITER, H.C., GOLLUB, R.L., HEINTGES, J., BAUMGARTNER, W.A., ROSEN, B.R. and D.R. GASTFRIEND 2000, The validity of self-reported drug use in non-treatment seeking individuals with cocaine dependence: correlation with biochemical assays, *Am. J. Addict.* 9 (3), S. 216-221
- FAVRETTO, D., FRISON, G., VOGLIARDI, S. and S.D. FERRARA 2006, Potentials of ion trap collisional spectrometry for liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry determination of buprenorphine and nor-buprenorphine in urine, blood and hair samples, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (8), S. 1257-1265
- FJELDSTED, J. 2003, Time-of-Flight Mass Spectrometry „Technical Overview“, Agilent Technologies USA, 5989-0373EN
- FORMAN, R., SCHNEIDERMAN, J., KLEIN, J., GRAHAM, K., GREENWALD, M. and G. KOREN 1992, Accumulation of cocaine in maternal and fetal hair; the dose response curve, *Life Sci.* 50 (18), S. 1333-1341
- GAILLARD, Y. and G. PÉPIN 1997, Hair testing for pharmaceuticals and drugs of abuse: forensic and clinical applications, *Am. Clin. Lab.* 16 (9), S. 18-22
- GAILLARD, Y. and G. PÉPIN 1997, Simultaneous solid-phase extraction on C18 cartridges of opiates and cocaine for an improved quantitation in human hair by GC-MS: one year of forensic applications, *Forensic Sci. Int.* 86 (1-2), S. 49-59
- GAILLARD, Y. and G. PÉPIN 1997, Screening and identification of drugs in human hair by high-performance liquid chromatography-photodiode-array UV detection and gas chromatography-mass spectrometry after solid-phase extraction. A powerful tool in forensic medicine, *J. Chromatogr. A.* 762 (1-2), S. 251-267
- GAILLARD, Y., VAYSSETTE, F. and G. PÉPIN 1997, Compared interest between hair analysis and urinalysis in doping controls. Results for amphetamines, corticosteroids and anabolic steroids in racing cyclists, *Forensic Sci. Int.* 107 (1-3), S. 361-379
- GIROD, C. and C. STAUB 2001, Acetylcodeine as a marker of illicit heroin in human hair: method validation and results of a pilot study, *J. Anal. Toxicol.* 25 (2), S. 106-111

- GOLDBERGER, B.A., CAPLAN, Y.H., MAGUIRE, T. and E.J. CONE 1991, Testing human hair for drugs of abuse. III. Identification of heroin and 6-acetylmorphine as indicators of heroin use, *J. Anal. Toxicol.* 15 (5), S. 226-231
- GOTTARDO, R., FANIGLIULO, A., BORTOLOTTI, F., DE PAOLI, G., PASCALI, J.P. and F. TAGLIARO 2007, Broad-spectrum toxicological analysis of hair based on capillary zone electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1159 (1-2), S. 190-197
- GOULLÉ, J.P., NOYON, J., LAYET, A., RAPOPORT, N.F., VASCHALDE, Y., PIGNIER, Y., BOUIGE, D. and F. JOUEN 1995, Phenobarbital in hair and drug monitoring, *Forensic Sci. Int.* 70 (1-3), S. 191-202
- GOULLÉ, J.P., NOYON, J., BIETRY, F., PATRICOT, B., ROUMAJON, A. and D. BOUIGE 1997, Hair opiates during pain treatment, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 137-144
- GYGI, S.P, WILKINS, D.G. and D.E. ROLLINS 1995, Distribution of codeine and morphine into rat hair after long-term daily dosing with codeine, *J. Anal. Toxicol.* 19 (6), S. 387-391
- HENDERSON, G.L., HARKEY, M.R., ZHOU, C. AND R.T. JONES 1992, Cocaine and metabolite concentrations in the hair of South American coca chewers, *J. Anal. Toxicol.* 16 (3), S. 199-201
- HENDERSON, G.L., HARKEY, M.R., ZHOU, C., JONES, R.T. and P. JACOB 1996, Incorporation of isotopically labeled cocaine and metabolites into human hair: 1. dose-response relationships, *J. Anal. Toxicol.* 20 (1), S. 1-12
- HENDERSON, G.L., HARKEY, M.R., ZHOU, C., JONES, R.T. and P. JACOB 1998, Incorporation of isotopically labeled cocaine into human hair: race as a factor, *J. Anal. Toxicol.* 22 (2), S. 156-165
- HILL, V., CAIRNS, T., CHENG, C.C. and M. SCHAFFER 2005, Multiple aspects of hair analysis for opiates: methodology, clinical and workplace populations, codeine, and poppy seed ingestion, *J. Anal. Toxicol.* 29 (7), S. 696-703

- HÖLD, K.M., WILKINS, D.G., ROLLINS, D.E., JOSEPH, R.E. and E.J. CONE 1998, Simultaneous quantitation of cocaine, opiates, and their metabolites in human hair by positive ion chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. Sci.* 36 (3), S. 125-130
- INGS, R.M.J. 1984, The melanin binding of drugs and its implications, *Drug Metab. Rev.* 15 (5-6), S. 1183-1212
- IWERSEN-BERGMANN, S., STEIN, S., SCHMOLDT, A., PETERSEN, K.U., THOMASIU, R. 2000, Toxikologische Ergebnisse zur Ecstasy Studie in: Thomasius, R. (Hrsg), ECSTASY - Eine Studie zu gesundheitlichen und psychosozialen Folgen des Missbrauchs, S. 101-110
- ISHIYAMA, I., NAGAI, T. And S. TOSHIDA 1983, Detection of basic drugs (methamphetamine, antidepressants and nicotine) from human hair, *J. Forensic Sci.* 28 (2), S. 380-385
- JOSEPH, R.E., SU, T.P. and E.J. CONE 1996, In vitro binding studies of drugs to hair: influence of melanin and lipids on cocaine binding to Caucasoid and Africoid hair, *J. Anal. Toxicol.* 20 (6), S. 338-344
- KAUERT, G., ANGERMANN, C., LEX, H. and C. SPES 1988, Clinical pharmacokinetics after a single oral dose of oxilofrine, *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 8 (5), S. 307-314
- KAUERT, G., HERRLE, I. and M. WERMEILLE 1993, Quantification of dimethindene in plasma by gas chromatography-mass fragmentography using ammonia chemical ionization, *J. Chromatogr.* 617 (2), S. 318-323
- KAUERT, G. and J. RÖHRICH 1996, Concentrations of delta 9-tetrahydrocannabinol, cocaine and 6-monoacetylmorphine in hair of drug abusers, *Int. J. Legal Med.* 108 (6), S. 294-299
- KAUERT, G. and J. RÖHRICH 1997, Determination of amphetamine and methylenedioxy-amphetamine-derivatives in hair, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 179-188
- KAUERT, G. 2007, Pharmakologisches Knocked Out. Ist das Bewusstlosigkeit oder was? Toxikologische und neurobiologische Grundlagen der kriminellen K.O.-Mittelbeibringung, Abstract V1, *Toxichem. + Krimtech.* 74 (1), S. 14

- KAWANISHI, H., TOYO'OKA, T., ITO, K., MAEDA, M., HAMADA, T., FUKUSHIMA, T., KATO, M. and S. INAGAKI 2007, Hair analysis of histamine and several metabolites in C3H/HeNCrj mice by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-TOF-MS): influence of hair cycle and age, *Clin. Chim. Acta.* 378 (1-2), S. 122-127
- KIDWELL, D.A. and D.L. BLANK 1993, External contamination of hair by cocaine: an issue in forensic interpretation, *Forensic Sci. Int.* 63 (1-3), S. 145-160
- KIDWELL, D.A. and D.L. BLANK 1995, Decontamination procedures for drugs of abuse in hair: are they sufficient?, *Forensic Sci. Int.* 70 (1-3), S. 13-38
- KIKURA, R. and Y. NAKAHARA 1997, Hair analysis for drugs of abuse. XVI. Disposition of fenethylamine and its metabolite into hair and discrimination between fenethylamine use and amphetamine use by hair analysis, *J. Anal. Toxicol.* 21 (4), S. 291-296
- KINTZ, P., LUDS, B. and P. MANGIN 1992, Detection of drugs in human hair using Abbott ADx, with confirmation by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS), *J. Forensic Sci.* 37 (1), S. 328-331
- KINTZ, P. and P. MANGIN 1993, Determination of gestational opiate, nicotine, benzodiazepine, cocaine and amphetamine exposure by hair analysis, *J. Forensic Sci. Soc.* 33 (3), S. 139-142
- KINTZ, P., CIRIMELE, V. and P. MANGIN 1995, Lack of relationship between morphine intake and morphine concentration in hair of carcinoma patients, *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 53 (10-11), S. 565-567
- KINTZ, P., MARESCAUX, C. and P. MANGIN 1995, Testing human hair for carbamazepine in epileptic patients: is hair investigation suitable for drug monitoring?, *Hum. Exp. Toxicol.* 14 (10), S. 812-815
- KINTZ, P., CIRIMELE, V., SENGLER, C. and P. MANGIN 1995, Testing human hair and urine for anhydroecgonine methyl ester, a pyrolysis product of cocaine, *J. Anal. Toxicol.* 19 (6), S. 479-482

- KINTZ, P., CIRIMELE, V., VAYSSETTE, F. and P. MANGIN 1996, Hair analysis for nordiazepam and oxazepam by gas chromatography-negative-ion chemical ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 677 (2), S. 36-41
- KINTZ, P., BUNDELI, P., BRENNISEN, R. and B. LUDES 1998, Dose-concentration relationships in hair from subjects in a controlled heroin-maintenance program, *J. Anal. Toxicol.* 22 (3), S. 231-236
- KINTZ, P., VILLAIN, M., CIRIMELE, V., PÉPIN, G. and B. LUDES 2004, Windows of detection of lorazepam in urine, oral fluid and hair, with a special focus on drug-facilitated crimes, *Forensic Sci. Int.* 145 (2-3), S. 131-135
- KINTZ, P., VILLAIN, M., DUMESTRE-TOULET, V. and B. LUDES 2005, Drug-facilitated sexual assault and analytical toxicology: the role of LC-MS/MS A case involving zolidem, *J. Clin. Forensic. Med.* 12 (1), S. 139-142
- KLINZIG, F., VINNER, E., BRASSART, C., HOUDAIN, E., HUMBERT, L. and M. LHERMITTE 2007, Hair analysis by LC-MS as evidence of nalbuphine abuse by a nurse, *J. Anal. Toxicol.* 31(1), S. 62-5
- KLYS, M., ROJEK, S. and F. BOLECHALA 2005, Determination of oxcarbazepine and its metabolites in postmortem blood and hair by means of liquid chromatography with mass detection (HPLC/APCI/MS), *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 825(1), S. 38-46
- KRONSTRAND, R., GRUNDIN, R. and J. JONSSON 1998, Incidence of opiates, amphetamines, and cocaine in hair and blood in fatal cases of heroin overdose, *Forensic Sci. Int.* 92 (1), S. 29-38
- KRONSTRAND, R. and A.W. JONES 2001, Concentration ratios of codeine-to-morphine in plasma after a single oral dose (100 mg) of codeine phosphate, *J. Anal. Toxicol.* 25 (6), S. 486-487
- KRONSTRAND, R., NYSTRÖM, I., JOSEFSSON, M. and S. HODGINS 2002, Segmental ion spray LC-MS-MS analysis of benzodiazepines in hair of psychiatric patients, *J. Anal. Toxicol.* 26 (7), S. 479-484

- LIN, Y.H., LEE, M.R., LEE, R.J., KO, W.K. and S.M. WU 2007, Hair analysis for methamphetamine, ketamine, morphine and codeine by cation-selective exhaustive injection and sweeping micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A.* 1145 (1-2), S. 234-240
- LINDQUIST, N.G. 1973, Accumulation of drugs on melanin, *Acta Radiol. Diagn. (Stockholm)* 325, S. 1-92
- LINDQUIST, N.G. and S. ULLBERG 1973, The melanin affinity of chloroquine and chlorpromazine studied by whole body autoradiography, *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenhagen)* 2 (2), S. 1-32
- LYDÉN, A., LARSSON, B. and N.G. LINDQUIST 1982, Studies on the melanin affinity of haloperidol, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 259 (2), S. 230-243
- MADEA, B. and F. MUBHOFF (Hrsg) 2004, *Haaranalytik: Technik in Medizin und Recht*, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln
- MADEA, B., PLIEGER, S. and F. MUBHOFF 2007, Begutachtung in Fällen von drogen-assoziierten Sexualdelikten, *Abstract V3, Toxichem. + Krimtech.* 74 (1), S. 15
- MATSUNO, H., UEMATSU, T. and M. NAKASHIMA 1990, The measurement of haloperidol and reduced haloperidol in hair as an index of dosage history, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 29 (2), S. 187-194
- MC CLEAN, S., O'KANE, E., HILLIS, J. and W.F. SMYTH 1999, Determination of 1,4-benzodiazepines and their metabolites by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography using ultraviolet and electrospray ionisation mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 838 (1-2), S. 273-291
- MC CLEAN, S., O'KANE and W.F. SMYTH 2000, Electrospray ionisation-mass spectrometric characterisation of selected anti-psychotic drugs and their detection and determination in human hair samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 740 (2), S. 141-157
- MEBS, D., WAGNER, M.G., POGODA, W., MANEYRO, R., KWET, A. and G. KAUERT 2007, Lack of bufadienolides in the skin secretion of red bellied toads,

- Melanophryniscus spp. (Anura, Bufonidae), from Uruguay, *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 144 (4), S. 398-402
- MEY, Z. and J. WILLIAMS 1997, Simultaneous determination of phenytoin and carbamazepine in human hair by high-performance liquid chromatography, *Ther. Drug Monit.* 19 (1), S. 92-94
- MIECZKOWSKI, T., TSATSAKIS, A.M., KRUGER, M. and T. PSILLAKIS 2001, The concentration of three anti-seizure medications in hair: the effects of hair color, controlling for dose and age, *BMC Clin. Pharmacol.* 1, S. 2
- MIYAZAWA, N. and T. UEMATSU 1992, Analysis of ofloxacin in hair as a measure of hair growth and as a time marker for hair analysis, *Ther. Drug Monit.* 14 (6), S. 525-528
- MÖLLER, M.R., FEY, P. and S. RIMBACH 1992, Identification and quantitation of cocaine and its metabolites, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester, in hair of Bolivian coca chewers by gas chromatography/mass spectrometry, *J. Anal. Toxicol.* 16 (5), S. 291-296
- MUßHOFF, F., DALDRUP, T., ADERJAN, R. and L. V. MEYER 2002, Anlagen zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen von 1998, Anhang B2: Qualitätsstandards für spezielle Analyten, *Toxichem. + Krimtech.* 69(1), S. 32
- MUSSHOFF, F., JUNKER, H.P., LACHENMEIER, D.W., KROENER, L. and B. MADEA 2002, Fully automated determination of amphetamines and synthetic designer drugs in hair samples using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. Sci.* 40 (6), S. 359-364
- MUßHOFF, F., SACHS, H. and D. THIEME 2004, Anlage zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen von 1998, Anhang B: Qualitätsstandards für spezielle Analyte, *Toxichem. + Krimtech.* 71(3), S. 140

- NAKAHARA, Y., TAKAHASHI, K., SHIMAMINE, M. and A. SAITOH 1992, Hair analysis for drugs of abuse. IV. Determination of total morphine and confirmation of 6-acetylmorphine in monkey and human hair by GC/MS, *Arch. Toxicol.* 66 (9), S. 669-674
- NAKAHARA, Y. 1995, Detection and diagnostic interpretation of amphetamines in hair, *Forensic Sci. Int.* 70 (1-3), S. 135-153
- NAKAHARA, Y., TAKAHASHI, K. and R. KIKURA 1995, Hair analysis for drugs of abuse. X. Effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair, *Biol. Pharm. Bull.* 18 (9), S. 1223-1227
- NAKAHARA, Y., TAKAHASHI, K., SAKAMOTO, T., TANAKA, A., HILL, V.A. and W.A. BAUMGARTNER 1997, Hair analysis for drugs of abuse. XVII. Simultaneous detection of PCP, PCHP and PCPdiol in human hair for confirmation of PCP use, *J. Anal. Toxicol.* 21 (5), S. 356-362
- NAKANO, M., UEMATSU, T., SATO, H., KOSUGE, K., NISHIMOTO, M. and M. NAKASHIMA 1994, Using ofloxacin as a time marker in hair analysis for monitoring the dosage history of haloperidol, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 47 (2), S. 195-202
- NEGRUSZ, A., MOORE, C.M. and J.L. PERRY 1998, Detection of doxepin and its major metabolite desmethyldoxepin in hair following drug therapy, *J. Anal. Toxicol.* 22 (6), S. 531-536
- NEGRUSZ, A., MOORE, C.M., DEITERMANN, D., LEWIS, D., KALECIAK, K., KRONSTRAND, R., FEELEY, B. and R.S. NIEDBALA 1999, Highly sensitive micro-plate enzyme immunoassay screening and NCI-GC-MS confirmation of flunitrazepam and its major metabolite 7-aminoflunitrazepam in hair, *J. Anal. Toxicol.* 23 (6), S. 429-435
- NEGRUSZ, A., MOORE, C.M., KERN, J.L., JANICAK, P.G., STRONG, M.J. and N.A. LEVY 2000, Quantitation of clonazepam and its major metabolite 7-aminoclonazepam in hair, *J. Anal. Toxicol.* 24 (7), S. 614-620

- NEGRUSZ, A., MOORE, C.M., HINKEL, K.B., STOCKHAM, T.L., VERMA, M., STRONG, M.J. and P.G. JANICAK 2001, Deposition of 7-aminoflunitrazepam and flunitrazepam in hair after a single dose of Rohypnol, *J. Forensic Sci.* 46 (5), S. 1143-1151
- PATERSON, S., CORDERO, R., MC PHILLIPS, M. and S. CARMAN 2003, Interindividual dose/concentration relationship for methadone in hair, *J. Anal. Toxicol.* 27 (1), S. 20-23
- PELFINI, C., CIRIMELE, D. and G. PISANU 1969, Aging of the skin and hair growth in man, in MONTAGNA, W. and R.L. DOBSON (Hrsg), *Advances in biology of skin Bd. 9*, S. 153-160, Pergamon, Oxford
- PENNING, R., FROMM, E., BETZ, P., KAUERT, G., DRASCH, G. and L. VON MEYER 1993, Drug death autopsies at the Munich Institute of Forensic Medicine (1981-1992), *Forensic Sci. Int.* 62 (1-2), S. 135-139
- PÉPIN, G. and Y. GAILLARD 1997, Concordance between self-reported drug use and findings in hair about cocaine and heroin, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 37-41
- PÖTSCH, L., SKOPP, G., ESER, H.P. and M.R. MOELLER 1996, Zum Suchtmittelnachweis in Haaren I. Die Abschätzung und Bedeutung des individuellen Haarwachstumsfensters und des intraepidermalen Abschnittes anagener Haare bei der segmentweisen Analyse, *Rechtsmedizin* 6, S. 156-160
- PÖTSCH, L., MAGNANI, D., EMMERICH, P. and G. SKOPP 2004, Comparative investigations on the uptake of basic substances into the human keratinocyte cell line HaCaT - a model for the uptake of xenobiotics into the keratinocytes of the hair follicle, *Arch. Kriminol.* 213 (1-2), S. 22-31
- PRAGST, F., ROTHE, M., HUNGER, J. and S. THOR 1997, Structural and concentration effects on the deposition of tricyclic antidepressants in human hair, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 225-236
- PRAGST, F., HERRE, S. and M. ROTHE 1998, Todesfall nach einer 10 Tage überlebten Amitriptylin-Intoxikation, *Toxichem. + Krimtech.* 65 (3), S. 106-109

- PRAGST, F., ROTHE, M., SPIEGEL, K. and F. SPORKERT 1998, Illegal and therapeutic drug concentrations in hair segments – a time table of drug exposure?, *Forensic Sci. Rev.* 10, S. 81-111
- PRAGST, F. and M.A. BALIKOVA 2006, State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse, *Clin. Chim. Acta.* 370 (1-2), S. 17-49
- PSILLAKIS, T., TSATSAKIS, A.M., CRISTODOULOU, P., MICHALODIMITRAKIS, M., PARITSIS, N. and E. HELIDONIS 1999, Carbamazepine levels in head hair of patients under long-term treatment: a method to evaluate the history of drug use, *J. Clin. Pharmacol.* 39 (1), S. 55-67
- RICKERT, A. and T. DALDRUP 1999, Nachweis von Tramadol in Haaren mittels GC/MS, Poster 18, XI. Symposium of the Society of Toxicological and Forensic Chemistry in Mosbach
- RÖHRICH, J. and G. KAUERT 1997, Determination of amphetamine and methylenedioxy-amphetamine-derivatives in hair, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 179-188
- ROLLINS, D.E., WILKINS, D.G. and G.G. KRÜGER 1996, Codeine disposition in human hair after single and multiple doses, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 50 (5), S. 391-397
- ROMANO, G., BARBERA, N. and I. LOMBARDO 2001, Hair testing for drugs of abuse: evaluation of external cocaine contamination and risk of false positives, *Forensic Sci. Int.* 123 (2-3), S. 119-129
- ROMANO, G., BARBERA, N., SPADARO, G. and V. VALENTI 2003, Determination of drugs of abuse in hair: evaluation of external heroin contamination and risk of false positives, *Forensic Sci. Int.* 131 (2-3), S. 98-102
- ROTHE, M., PRAGST, F., J. HUNGER and S. THOR 1995, Determination of Carbamazepine and its metabolites in hair of epileptics, in: Spieler, V. (Hrsg), *Proceedings of the 1994 Joint TIAFT/SOFT International Meeting*, 31. Okt. - 04. Nov. 1994 in Tampa, S. 198-206, DABFT, Newport Beach

- ROTHE, M. 1997, Untersuchung zur Abscheidung und analytischen Bestimmung von Arzneimittelwirkstoffen im Haar, Dissertation, Math.-Nat. Fakultät der Humboldt-Universität Berlin
- ROTHE, M., PRAGST, F., SPIEGEL, K., HARRACH, T., FISCHER, K. and J. KUNKEL 1997, Hair concentrations and self-reported abuse history of 20 amphetamine and ecstasy users, *Forensic Sci. Int.* 89 (1-2), S. 111-128
- ROTHE, M., PRAGST, F., THOR, S. and J. HUNGER 1997, Effect of pigmentation on the drug deposition in hair of grey-haired subjects, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 53-60
- SARAFRAZ YASDI, A. and Z. ES'HAGHI 2005, Surfactant enhanced liquid-phase microextraction of basic drugs of abuse in hair combined with high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.* 1094 (1-2), S. 1-8
- SARIS, L.A, BREKELMANS, G.J., VAN DER LINDEN, G.J., RADEMAKER, R.V. and P.M. EDELBROEK 1997, High-performance liquid chromatographic determination of carbamazepine and metabolites in human hair, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 691 (2), S. 409-415
- SATO, R., UEMATSU, T., SATO, R., YAMAGUCHI, S. and M. NAKASHIMA 1989, Human scalp hair as evidence of individual dosage history of haloperidol: prospective study, *Ther. Drug Monit.* 11 (6), S. 686-691
- SCHAFFER, M.I., WANG, W.L. and J. IRVING 2002, An evaluation of two wash procedures for the differentiation of external contamination versus ingestion in the analysis of human hair samples for cocaine, *J. Anal. Toxicol.* 26 (7), S. 485-488
- SCHAFFER, M.I., HILL, V. and T. CAIRNS 2005, Hair analysis for cocaine: the requirement for effective wash procedures and effects of drug concentration and hair porosity in contamination and decontamination, *J. Anal. Toxicol.* 29 (5), S. 319-326
- SCHMITT, G., HERBOLD, M. and F. PETERS, Methodvalidierung im forensisch-toxikologischen Labor. Auswertung von Validierungsdaten nach den Richtlinien der GTFCh mit Valistat., Arvecon GmbH, Walldorf (Hrsg.), S. 1-86

- SCHULZ, M. and A. SCHMOLDT 2003, Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics, *Pharmazie* 58 (7), S. 447-474
- SHEN, M., XIANG, P., WU, H., SHEN, B. and Z. HUANG 2002, Detection of antidepressant and antipsychotic drugs in human hair, *Forensic Sci. Int.* 126 (2), S. 153-161
- SKENDER, L., KARACIĆ, V., BRČIĆ, I. and A. BAGARIĆ 2002, Quantitative determination of amphetamines, cocaine, and opiates in human hair by gas chromatography/mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 125 (2-3), S. 120-126
- SPORKERT, F. and F. PRAGST 2000, Determination of methadone and its metabolites EDDP and EMDP in human hair by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 746 (2), S. 255-264
- SPORKERT, F. and F. PRAGST 2000, Use of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) in hair analysis for organic compounds, *Forensic Sci. Int.* 107 (1-3), S. 129-148
- SPORKERT, F. and F. PRAGST 2001, Analysis of amphetamines and other basic drugs in hair by combined alkaline digestion, headspace solid phase microextraction and derivatisation, in: Rasanen I (Hrsg), *Proceedings of the 38th International Meeting of TIAFT, 13.-17. August 2000 in Helsinki*, S. 429-439, Tallina Raamatuürikikoja, Helsinki
- SRAMEK, J.J., BAUMGARTNER, W.A., AHRENS, T.N., HILL, V.A. and N.R. CUTLER 1992, Detection of benzodiazepines in human hair by radioimmunoassay, *Ann. Pharmacother.* 26 (4), S. 469-472
- SUZUKI, S., INOUE, T., HORI, H. and S. INAYAMA 1989, Analysis of methamphetamine in hair, nail, sweat, and saliva by mass fragmentography, *J. Anal. Toxicol.* 13 (3), S. 176-178
- TANAKA, S., IIO, R., CHINAKA, S., TAKAYAMA, N. and K. HAYAKAWA 2002, Analysis of reaction products of cocaine and hydrogen peroxide by high-performance liquid chromatography / mass spectrometry, *Biomed. Chromatogr.* 16 (6), S. 390-340

- TESTORF, M.F., KRONSTRAND, R., SVENSSON, S.P., LUNDSTRÖM, I. and J. AHLNER 2001, Characterization of [3H]flunitrazepam binding to melanin, *Anal. Biochem.* 298 (2), S. 259-264
- THORSPECKEN, J., SKOPP, G. and L. PÖTSCH 2000, In vitro contamination of hair by marijuana smoke, *Clin. Chem.* 50 (3), S. 596-602
- TÖNNES, S.W., POGODA, W., KAUERT, G., KUCH, U. and M.A. FAIZ 2007, Serie von Raubüberfällen mit Verabreichung von K.O.-Mitteln im Bereich des öffentlichen Transportwesens in Bangladesch, Abstract V4, *Toxichem. + Krimtech.* 74 (1), S. 15
- TOYO'OKA, E., KUMAKI, Y., KANBORI, M., KATO, M. and Y. NAKAHARA 2003, Determination of hypnotic benzodiazepines (alprazolam, estazolam, and midazolam) and their metabolites in rat hair and plasma by reversed-phase liquid-chromatography with electrospray ionization mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 30 (6), S. 1773-1787
- TRAQUI, A., KREISSIG, P., KINTZ, P., POULIQUEN, A. and P. MANGIN 1992, Determination of amitriptyline in the hair of psychiatric patients, *Hum. Exp. Toxicol.* 11 (5), S. 363-367
- TRAQUI, A. 1996, Unusual drugs in hair, in: Kintz, P. (Hrsg), *Drug testing in hair*, S. 191-210, CRC Press, Boca Raton
- TSATSAKIS, A.M., PSILLAKIS, T.K., TZATZARAKIS, M., KOURTOPOULOS, H. and N. PARITSIS 1997, Carbamazepine levels in the hair of patients under long-term treatment: a preliminary study, *Clin. Chim. Acta.* 263 (2), S. 187-195
- UEMATSU, T., SATO, R., SUZUKI, S., YAMAGUCHI, S. and M. NAKASHIMA 1989, Human scalp hair as evidence of individual dosage history of haloperidol: method and retrospective study, *Eur. J. Clin. Pharm.* 37 (3), S. 239-244
- UEMATSU, T., SATO, R., FUJIMORI, O. and M. NAKASHIMA 1990, Human scalp hair as evidence of individual dosage history of haloperidol: a possible linkage of

- haloperidol excretion into hair with hair pigment, *Arch. Dermatol. Res.* 282 (2), S. 120-125
- VAN DEN HAUWE, O., DUMOULIN, F., ELLIOTT, C. and C. VAN PETEGHEM 2005, Detection of synthetic glucocorticoid residues in cattle tissue and hair samples after a single dose administration using LC-MS/MS, *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 817 (2), S. 215-223
- VAYSSETTE, F., MALERCZYK, V., KAUERT, G. and H. LORENZ 1988, Dose linearity and relative bioavailability testing of oxilofrine, a sympathicomimetic drug, in healthy volunteers, *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 8 (3), S. 211-215
- VERHO, M., MALERCZYK, V., KAUERT, G. and H. LORENZ 1988, Dose linearity and relative bioavailability testing of oxilofrine, a sympathicomimetic drug, in healthy volunteers, *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 8 (3), S. 211-215
- VERHO, M., CIRIMELE, V., KINTZ, P. and P. MANGIN 1996, Detection of nordiazepam in the hair of drug addicts, *Ann. Pharm.* 54 (5), S. 211-216
- VINNER, E., VIGNAU, J., THIBAUT, D., CADACCIONI, X., BRASSARD, C., HUMBERT, L. and M. LHERMITTE 2003, Hair analysis of opiates in mothers and newborns for evaluating opiate exposure during pregnancy, *Forensic Sci. Int.* 133 (1-2), S. 57-62
- WANG, W.L. and E.J. CONE 1995, Testing human hair for drugs of abuse. IV. Environmental cocaine contamination and washing effects, *Forensic Sci. Int.* 70 (1-3), S. 39-51
- WEINMANN, W., MÜLLER, C., VOGT, S. and A. FREI 2002, LC-MS-MS analysis of the neuroleptics clozapine, flupentixol, haloperidol, penfluridol, thioridazine, and zuclopenthixol in hair obtained from psychiatric patients, *J. Anal. Toxicol.* 26 (5), S. 303-307
- WILKINS, D.G., HAUGHEY, H.M., KRUEGER, G.G. and D.E. ROLLINS 1995, Disposition of codeine in female human hair after multiple-dose administration, *J. Anal. Toxicol.* 19 (6), S. 492-498

- WILLIAMS, J., PATSALOS, P.N. and F.J. WILSON 1997, Hair analysis as a potential index of therapeutic compliance in the treatment of epilepsy, *Forensic Sci. Int.* 84 (1-3), S. 113-122
- WILLIAMS, J., PATSALOS, P.N., MEI, Z., SCHAPPEL, G., WILSON, J.F. and A. RICHENS 2001, Relation between dosage of carbamazepine and concentration in hair and plasma samples from a compliant inpatient epileptic population, *Ther. Drug Monit.* 23 (1), S. 15-20
- WILLIAMS, J., MYSON, V., STEWARD, S., JONES, G., WILSON, J.F., KERR, M.P. and P.E. SMITH 2002, Self-discontinuation of antiepileptic medication in pregnancy: detection by hair analysis, *Epilepsia.* 43 (8), S. 824-831
- XIANG, P., SHEN, M., SHEN, B.H., MA, D., BU, J., JIANG, Y. and X.Y. ZHUO 2006, Determination of opiates in biological human samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Fa Yi Xue Za Zhi* 22 (1), S. 52-54
- YEGLES, M., MERSCH, F. and R. WENNIG 1997, Detection of benzodiazepines and other psychotropic drugs in human hair by GC/MS, *Forensic. Sci. Int.* 84 (1-3), S. 211-208
- YEGLES, M., MARSON, Y. and R. WENNIG 2000, Influence of bleaching on stability of benzodiazepines in hair, *Forensic Sci. Int.* 107 (1-3), S. 87-92
- YUAN, H., MESTER, Z., LORD, H. and J. PAWLISZYN 2000, Automated in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry for the determination of selected benzodiazepines, *J. Anal. Toxicol.* 24 (8), S. 718-725
- YUKAWA, E., ICHIMARU, R., MAKI, T., MATSUNAGA, K., ANAI, M., YUKAWA, M., HIGUCHI, S. and Y. GOTO 2003, Interindividual variation of serum haloperidol concentrations in Japanese patients-clinical considerations on steady-state serum level-dose ratios, *J. Clin. Pharm. Ther.* 28 (2), S. 97-101

Anhang

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Christiane Schröter
Geburtsdatum: 01.11.1981
Geburtsort: Halle/Saale
Anschrift: Hauptstr.24
67259 Großniedesheim
e-mail: christiane-schroeter@web.de
Vater: Dr. med. Thomas Schröter, Facharzt für Innere Medizin
Mutter: Steffi Kreißl, geb. Hornkohl, Praktische Ärztin

Schulbildung

1988-1990: Polytechnische Oberschule Weimar
1990-1993: Freie Waldorfschule Weimar
1993-2001: Freie Waldorfschule Frankenthal
06/2001: Allgemeine Hochschulreife

Hochschulstudium

09/2001: Immatrikulation im Fachbereich Humanmedizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main
10/2003: Ärztliche Vorprüfung
2006-2007: Praktisches Jahr in den Städtischen Kliniken Höchst und im Universitätsklinikum Frankfurt am Main
10-12/2007: 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung nach neuer ÄAppO
12/2007: Erteilung der Approbation als Ärztin

Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

„Nachweis von zentral wirksamen Arzneimitteln im Kopfhaar psychiatrischer Patienten mittels LC-TOF MS“

in dem **Institut für Forensische Toxikologie**

unter Betreuung und Anleitung von **Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. G. Kauert**

mit Unterstützung durch **Frau Dr. S. Iwersen-Bergmann**

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Die vorliegenden Daten wurden teilweise veröffentlicht:

- Schröter, C., Iwersen-Bergmann, S., Tönnies, S.W., Wagner, M.G., Kauert, G.F. Vortrag auf der 85. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin April 2006, Medizinische Universität Innsbruck, Abstract 619, „Nachweis von zentral wirksamen Arzneimitteln in den Kopfharen psychiatrischer Patienten mittels LC-TOF“
- Iwersen-Bergmann, S., Schröter, C., Toennes, S.W., Konz, S., Kauert, G.F. Vortrag auf dem 37. Treffen der Oberrheinischen Rechtsmediziner, Büdingen Mai 2007, Abstract 10, „Haarbefunde bei psychiatrischen Patienten mittels LC-TOF“
- Iwersen-Bergmann, S., Schröter, C., Konz, S., Wagner, M.G., Kauert, G.F., Toennes, S.W. Vortrag auf dem TIAFT – Meeting in Seattle 2007, “Hair analysis using LC-TOF MS - a simple and sensitive method for the detection of medical drugs and drugs of abuse”

Frankfurt, den 09.11.2007

Christiane Schröter