



GESELLSCHAFT FÜR TOXIKOLOGISCHE UND FORENSISCHE CHEMIE

**Toxichem**

**+**

**Krimtech**

**64 (1)**



# TOXICHEM + KRIMTECH

Mitteilungsblatt der  
Gesellschaft für toxikologische und forensische Chemie

Das Mitteilungsblatt erscheint dreimal jährlich. Alle Mitglieder der GTFCh erhalten die Zeitschrift im Rahmen ihres Mitgliedsbeitrages.

**Schriftleitung:**

Prof. Dr. Thomas Daldrup  
Institut für Rechtsmedizin  
Heinrich-Heine-Universität  
Postfach 10 10 07  
D-40001 Düsseldorf  
Tel. 0211-81-19-382/-170

**Vertrieb:**

Geschäftsstelle der GTFCh  
Karl Schmidt  
Landgrabenstraße 74  
D-61118 Bad Vilbel  
Tel. 06101-86171

**Satz:**

Dr. Frank Mußhoff  
Institut für Rechtsmedizin  
Rheinische Friedrich-Wilhelms-  
Universität  
Stiftsplatz 12; D-53111 Bonn  
Tel. 0228-7383-16/-33

Bankverbindung der GTFCh: Prof. Dr. M. R.Möller, GTFCh, Postgiroamt Saarbrücken (BLZ: 590 100 66) Kontonummer: 257 54-669

**Inhaltsverzeichnis**

	Seite
Programm und Abstracts Mosbach '97 10. Symposium der GTFCh vom 17. bis 19. April 1997	2
S. Schneider, R. Wennig Evaluation of the first REMEDI Collaborative Study	28
M. J. Bogusz, S. Drießen Methodische Aspekte der Standardisierung bei der Opiat-Analytik mittels LC-APCI-MS	32
M. Erdweg Der Nachweis von Amitriptylin bei einer Intoxikation durch tricyclische Antidepressiva (TCA)	37
R. Giebelmann Kulturgeschichtliches zum Cocain	40
G. Megges In Kürze: Aus den Sitzungen des Vorstandes	44
R. Wennig Bericht 1997 des Arbeitskreises der GTFCh "Analytik der Suchstoffe"	45
U. Demme Protokoll der Sitzung des Arbeitskreises "Extraktion" der GTFCh	46
T. Briellmann In memoriam: Siegfried Rippstein	50
Buchbesprechungen	51

## **GTFCh-Symposium 1997**

### **Moderne Meßverfahren im Rahmen der toxikologisch-forensischen Begutachtung**

**Freitag, den 18. April 1997**

#### **9.00 Uhr Eröffnung des Symposiums und Grußworte**

##### **Moderne Analysetechniken**

- 1 H.M. Widmer (Riehen)  
Trends in der instrumentellen Analytik zur Untersuchung von Körperflüssigkeiten
- 2 M. J. Bogusz (Aachen)  
Anwendung der APCI-LC-MS in der forensischen Toxikologie - Möglichkeiten und Perspektiven
- 3 P. Rösner (Kiel)  
Tochterionenspektroskopie zur Gewinnung struktureller Zusatzinformationen im Rahmen forensisch-toxikologischer Untersuchungen
- 4 U. Braumann, E. Humpfer, R. Weisemann und M. Spraul (Karlsruhe)  
Einsatzmöglichkeiten der NMR Spektroskopie in der forensischen Toxikologie

PAUSE

#### **11.40 Uhr Fortschritte bei der Anwendung von Methoden**

- 5 M. Frost (Münster)  
Anwendungsmöglichkeiten der Kapillarelektrophorese in der forensischen Toxikologie
- 6 C. J. Schmitt, A. A. Weber und H. H. Maurer (Homburg/Saar)  
Improved method for the detection of  $\alpha$ - and  $\beta$ -amanitin in urine by atmospheric pressure ionization electrospray (API-ES) LC-MS
- 7 O. Temme, F. Mußhoff und Th. Daldrup (Düsseldorf)  
Erste Erfahrungen mit der HP-PrepStation: Adaption manueller Methoden zur Festphasenextraktion von Cannabinoiden, Opiaten und Cocain sowie Benzoyllecgonin
- 8 S. H. W. Tönnes und H. H. Maurer (Homburg/Saar)  
Column packed immobilized  $\beta$ -glucuronidase and arylsulfatase for the cleavage of conjugates - Studies on the stability during storage and during repeated use, and on the avoidance of analyte carry-over

- 9 H.-J. Hübschmann (Sprockhövel)  
Funktion und Einsatz der MS/MS-Technik am Beispiel von GC- Analysen auf  
Pharmaka und Drogen

MITTAGSPAUSE

**14. 30 Uhr Untersuchungen von alternativen Körpermaterialien**

- 10 L. Pötsch und G. Skopp (Mainz, Heidelberg)  
Zu Möglichkeiten und Grenzen forensisch-toxikologischer Untersuchungen an  
nicht konventionellen Asservaten
- 11 G. Skopp und L. Pötsch (Heidelberg, Mainz)  
Drogen in Schweiß und Talg - ein Aspekt der Haaranalyse
- 12 A. Gleixner und H.H.D. Meyer (Basel)  
Nachweis von Clenbuterol in menschlichem Kopfhaar
- 13 P. Kintz (Strasbourg)  
Drug testing in sweat

PAUSE

**16.00 Uhr Aktuelle Ergebnisse von toxikologischen Studien und Untersuchungen  
(Teil I)**

- 14 A. Bimmermann, C. Köppel, G. Fahron, J. Tenczer und V. Schneider (Berlin)  
Klinische Bedeutung einer DDT-Belastung bei Patienten einer Umweltmedizini-  
schen Ambulanz
- 15 J. W. Arlt und H. H. Maurer (Homburg/Saar)  
On the toxicological detection of dihydropyridine calcium channel blockers and  
their metabolites in urine by GC-MS after extractive alkylation

**16.30 Uhr Medien und Wissenschaftler**

- 16 H. Frankhauser (Basel)  
Massenmedien: Fallgrube für Wissenschaftler ?

**19.00 Uhr STAS-Festsitzung (Tagungszentrum Alte Mälzerei)**

Verleihung der Stas-Medaille 1997  
Festvortrag: K. Besserer (Tübingen)  
Ein Giftmord mit Nitroso-dimethylamin

**Samstag, den 19. April 1997**

**9.00 Uhr Aktuelle Ergebnisse von toxikologischen Studien und Untersuchungen  
(Teil II)**

- 17 G. Schmitt, P. Drönner und R. Aderjan (Heidelberg)  
»Sensationelle Wende entschied Prozeß zugunsten des Angeklagten« -  
Blutprobe mit 1,44 ‰ Ethanol enthielt kein Ethylglucuronid
- 18 Th. Kraemer, I. Vernaleken und H. H. Maurer (Homburg/Saar)  
Studies on the metabolism and toxicological detection of the amphetamine like anorectic mefenorex in human urine by GC/MS and fluorescence polarization immunoassay (FPIA)
- 19 A. Schmoldt, S. Iwersen und G. Chorzelski (Hamburg)  
Enantioselektive Analyse von d,l-Methadon bei 35 Substituierten nach Umstellung von l-Methadon auf d,l-Methadon
- 20 A. Alt (Ulm)  
Lebensmittel auf Hanfbasis und deren forensische Bedeutung

**Poster - Ausstellung und Diskussion**

- 21 M. J. Bogusz, R.-D. Maier und S. Drießen (Aachen)  
Nachweis von Morphin, Morphin-3-Glucuronid, Morphin-6-Glucuronid und 6-Monoacetylmorphin mittels APCI-LC-MS bei Heroin-Todesfällen
- 22 M. J. Bogusz, R.-D. Maier, A. Schäfer und M. Erkens (Aachen)  
Eine neue Delikatesse aus der Drogenszene: Honig mit Psilocybe-Pilzen
- 23 A. Rickert und Th. Daldrup (Düsseldorf)  
Erste Erfahrungen mit CEDIA DAU zum Nachweis von Betäubungsmitteln im Blut
- 24 A. Meyboom, H. Weißer und W. Martz (Hannover, Bremen)  
Bestimmung von alpha-Amanitin durch Hemmung der RNA-Polymerase II
- 25 V. Cirimele, P. Kintz, O. Gosselin und B. Ludes (Strasbourg)  
Blood and hair analysis for clozapine
- 26 A.A. Weber und H.H. Maurer (Homburg/Saar)  
Improvement of sample preparation for the STA - Acceleration of acid hydrolysis and derivatization procedures by microwave irradiation
- 27 M. Yegles und R. Wennig (Luxembourg)  
Nachweis von Benzodiazepinen in Haaren mittels Kapillarelektrophorese

- 28 F. Saldi, R. Wennig, H.N. Migeon, C. Simon und S. Schneider (Luxembourg)  
Secondary ion mass spectrometry of drugs of abuse
- 29 F. Aberl, J. Bonenberger und H. Sachs (Ottobrunn, München)  
DRUGWIPE- ein Wischtest zum Nachweis illegaler Drogen in Schweiß
- 30 K. Harzer (Stuttgart)  
Automatisierte Suchkontrolle von Betäubungsmitteln im Serum mit der HP-  
Prepstation und GC-MS
- 31 B. Herber, A. Hanses, J. Röhrich, H. Spahn-Langguth, G. Kauert und P. Langguth  
(Frankfurt/M., Halle/Saale, Mölndal)  
Anwendung einer Festphasenextraktionsmethode für pharmakologische und toxiko-  
logische Problemstellungen in komplexen biologischen Matrices
- 32 D. Heß, J. Röhrich, M. Svoboda, K. Schmidt und G. Kauert (Frankfurt/M., Langen)  
Nachweis von Cocain, 6-Monoacetylmorphin und MDMA in Haaren mit Flow-  
Injection Ionspray MS/MS
- 33 F. Mußhoff und K. Alt (Bonn, Freiburg)  
Toxikologie und Archäologie - Archäometrische Untersuchungen von Nachge-  
burtsgefäßen
- 34 J. Schülein, B. Schoppek, E. Korte (Darmstadt, Haar)  
Analyse von Tricyclischen Antidepressiva mit Festphasenextraktion und HPLC

# Abstracts

1

## **Trends in der instrumentellen Analytik zur Untersuchung von Körperflüssigkeiten**

*H.M. Widmer, CH 4125 Riehen*

Ein Abstract lag bei Redaktionsschluß noch nicht vor.

2

## **Anwendung der APCI-LC-MS in der forensischen Toxikologie - Möglichkeiten und Perspektiven**

*M.J. Bogusz, Institut für Rechtsmedizin der RWTH Aachen, Klinikum, 52057 Aachen*

Atmospheric pressure ionization mass spectrometry (API-MS) wurde erstmals vor mehr als 20 Jahren in der Bioanalyse angewandt. Instrumente, die eine breite Routineanwendung der API-MS ermöglicht haben, wurden jedoch erst in den 90-iger Jahren entwickelt. Hauptvorteil der API ist die sehr hohe Ionisierungseffizienz aufgrund von hoher Kollisionsfrequenz. Besonders attraktiv ist die Kopplung der API-MS mit der HPLC (API-LC-MS), die sich in zwei Hauptrichtungen entwickelt hat: Electrospray (ESI) bzw. Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI). ESI-LC-MS ist besonders für eine schonende Untersuchung von großen Molekülen (z.B. Bestimmung der Molmassen von Proteinen) geeignet. Mittels APCI-LC-MS können die Moleküle bis 2 KDa untersucht werden. Mit beiden Techniken ist es möglich, nicht nur Molmassen von Substanzen zu bestimmen, sondern auch aussagekräftige Fragmentierungen zu erzeugen (sog. Collision Induced Dissociation - CID). Dies gilt sowohl für das single quadrupole system als auch für das triple quadrupole system.

Im Vortrag sollen einjährige Erfahrungen mit der APCI-LC-MS (single quadrupole CID) vorgestellt werden. Die Methode wurde für die Identifizierung und Quantifizierung von 14 psychoaktiven Phenethylaminen (Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDA, MDE, MBDB, BDMPEA usw.), für Opiate und dessen Glucuronide (Morphin, M-3-G, M-6-G, Codein, C-6-G, MAM, DHC), für Cocain und Benzoyllecgonin, Psilocin und Psilocybin angewendet.

Die Anwendungen folgender Substanzen sollten ebenfalls diskutiert werden: Aconitum-Alkaloide, Amlodipin, Buprenorphin, Cannabinoide, Clenbuterol, Colchicin, Fenoterol, Herbizide, LSD, Mykotoxine, phosphororganische Insektizide, Platinverbindungen, Salbutamol. Als Vorteil gegenüber GC-MS ist eine direkte Anwendbarkeit der API-LC-MS für polare Stoffe (insb. Metabolite) und thermolabile Substanzen anzusehen. Da bisher keine universelle Datenbibliothek zu Verfügung steht, ist API-LC-MS eher für gezielte Untersuchungen geeignet. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß GC-MS und API-LC-MS komplementär sind. In näher Zukunft ist ein Toxi-Labor ohne ESI/APCI-LC-MS nicht mehr vorstellbar.



## 3

**Tochterionenspektroskopie zur Gewinnung struktureller Zusatzinformationen im Rahmen forensisch toxikologischer Untersuchungen**

*P. Rösner, Sachgebiet Toxikologie, Landeskriminalamt Kiel, Mühlenweg 166, 24116 Kiel*

Die hohe Strukturvielfalt der heutigen Drogen bedingt, daß die übliche Elektronenstoßmassenspektroskopie nicht mehr in der Lage ist, in jedem Fall verlässliche Information zur Identifikation der oftmals isomeren Drogenvarianten zu liefern. So sind etwa Designerdrogen des Amphetamintyps hinsichtlich ihrer massenspektroskopischen Identifikation besonders problematisch. Ihre Elektronenstoßmassenspektren bestehen in der Regel aus nur einem einzelnen intensiven Peak im unteren Massenbereich und wenigen signifikanten Fragmenten geringer Intensität im oberen Massenbereich.

Der wünschenswerte Einsatz der chemischen Ionisation (CI) zur Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit von Verbindungen in komplexer Matrix führt häufig zu einem erheblichen Verlust an Information, da die erhaltenen Massenspektren aus nur wenigen Fragmenten bestehen. Es besteht daher bei forensisch toxikologischen Untersuchungen häufig ein Bedarf an struktureller Zusatzinformation.

Eine Möglichkeit der Gewinnung massenspektroskopischer Zusatzinformation besteht in der Aufnahme von Tochterionenspektren geeigneter Ionen. Diese im Rahmen forensisch toxikologischer Untersuchungen im Vergleich zu anderen massenspektroskopischen Verfahren relativ selten eingesetzte Methode (1,2,3) bietet exzellente Nachweismöglichkeiten bis in den Picogramm-Bereich und ist nach unseren bisherigen Untersuchungen hinsichtlich der Eindeutigkeit einer Strukturzuordnung sehr zuverlässig, sofern Tochterionenspektren von Ionen herangezogen werden, die Stickstoffatome enthalten (4).

Im Falle des Einsatzes der chemischen Ionisation liefert die Tochterionenspektroskopie durch Fragmentierung des Molekülions in der Kollisionszelle eine Reihe von Fragmenten, deren Massenspektrum auch eine eindeutige Differenzierung bei Verbindungen ermöglicht, die das gleiche Molekulargewicht aufweisen.

Im Gegensatz zu den anderen massenspektroskopischen Verfahren wie etwa dem single ion monitoring oder dem single reaction monitoring geht mit dem Gewinn an Empfindlichkeit bei der Tochterionenspektroskopie in der Regel somit kein Verlust an massenspektroskopischer Information einher, was beispielhaft an konkreten Fällen aufgezeigt wird:

Bei matrixbelasteten Proben ermöglicht erst die Tochterionenspektroskopie durch Ausblendung des chemischen Untergrundes eine Nachweisgrenze, die der Spezifikation des Massenspektrometers nahekommt.

Da zunehmend preiswerte und leicht bedienbare Massenspektrometer mit MS/MS-Möglichkeiten angeboten werden, könnte sich die Tochterionenspektroskopie in Zukunft zu einem leistungsfähigen Standardverfahren für forensisch toxikologische Untersuchungen entwickeln.

(1) Structural Information from Tandem Mass Spectrometry for China White and related Fentanyl Derivatives, Cheng, M.T.; Kruppa G.H.; Mc Lafferty, F. W. *Anal Chem.* 1982, 54, 2204-2207.

(2) Structural Elucidation of Drug Metabolites by Triple-Quadrupole Mass Spectrometry, Perchalski, R.J.; Yost, R.A., Wilder B.J. *Anal. Chem.* 1982, 54, 1466-1471.

(3) Rösner P.; Junge, Th, N-Methyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamin, ein Vertreter einer neuen Klasse von Designerdrogen, *Toxichem+Krimtech* 61(2) 32-38 (1994).

N-methyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamine, a Representative of a New Class of Street Drugs, Rösner P.; Junge, Th. *Microgram*, 1994, 27 (12), 411-418.

(4) Investigation of the Alkylamino Group of Aliphatic or Arylaliphatic Amines by Collision-induced Dissociation Mass Spectra of  $C_4H_{10}N^+$  Immonium Ions, Rösner P.; Junge, Th. *J. Mass Spec.* 1996, 31, 1047-1053.

## **Einsatzmöglichkeiten der NMR Spektroskopie in der forensischen Toxikologie**

*Ulrich Braumann, Eberhard Humpfer, Rüdiger Weisemann, Manfred Spraul; BRUKER Analytische Messtechnik, Silberstreifen, D-76287 Rheinstetten/Karlsruhe*

Die NMR Spektroskopie ist diejenige spektroskopische Methode, die den größten Umfang an Strukturinformationen liefert. Sie eignet sich daher optimal zur Detektion bekannter und Identifizierung unbekannter Verbindungen.

Für die Messung der Proben ergeben sich mehrere Möglichkeiten. Aufgrund der hohen spektralen Dispersion ist die NMR geeignet auch mehrere verschiedene Substanzen nebeneinander ohne Signalüberlappungen zu detektieren. Bei bekannten Verbindungen und vorhandenem internen Standard ist auch die Quantifizierung der detektierten Substanzen möglich.

Für die Detektion bereits bekannter Verbindungen kann, ausgehend von den Mischungspektren, ein Vergleich mit Spektrendatenbanken erfolgen. Das Programm AMIX vereinfacht und automatisiert diesen Vorgang, so daß der gesamte Prozeß mit Spektrenaufnahme und Auswertung bereits nach 10 Minuten zu einer eindeutigen Aussage bezüglich der Zusammensetzung führen kann.

Bei komplexen Mischungen, wie biologischen Proben, kann die spektrale Dispersion durch Einsatz von 2D Techniken (TOCSY, COSY, J-RES, inverse Experiment) weiter vergrößert werden. Auch hier kann eine automatisierte Auswertung durch AMIX erfolgen.

Zur Spektrenaufnahme werden im einfachsten Fall die Proben in deuterierten Lösungsmitteln aufgenommen bzw. mit diesen versetzt. Es handelt sich also um klassische Hochauflösungs-NMR-Spektroskopie.

Die HR-MAS Spektroskopie erlaubt auch von Proben, die selbst unlöslich sind und die Substanzen in einer Matrix gebunden enthalten, z.B. als Pflanzeninhaltsstoff (Psilocybin im Pilz, LSD auf Löschpapier als Trip), hochaufgelöste Spektren zu erhalten.

Die Probe wird mit deuteriertem Lösungsmittel versetzt und ohne weitere Vorbereitung in einem Rotor im HR-MAS Probenkopf gemessen. In diesem Fall erhält man hochaufgelöste Spektren aller Inhaltsstoffe, ohne daß die Gefahr besteht, diese durch vorbereitende Maßnahmen (Extraktion, ...) zu verändern oder nicht zu erfassen.

Am 400MHz Gerät konnten innerhalb von 2 Minuten die strukturspezifischen Signale einer marktüblichen Menge von LSD (1-2 Trips) durch direkte Messung des LSD-haltigen Papiers (neben den Signalen aller anderen Inhaltsstoffe) erkannt werden.

Für die Identifikation unbekannter Verbindungen, die Detektion von Bestandteilen sehr geringer Konzentration oder bei starken Signalüberlappungen der einzelnen Komponenten muß der Spektrenaufnahme eine Trennung vorausgehen. Erfolgt die Trennung mittels HPLC kann eine direkte Kopplung an die Detektion (NMR) erfolgen.

Der Einsatz moderner NMR Spektrometer mit hoher Dynamik der Empfänger, speziellen LC-Probenköpfen und Techniken zur Lösungsmittelunterdrückung erlaubt die direkte Untersuchung von Proben in protonierten HPLC Lösungsmitteln. Die Detektionsgrenzen liegen an einem 500MHz Gerät, je nach Zeitaufwand, bei ca. 100-500ng pro detektierter Komponente.

Gegenüber der konventionellen Technik des Fraktionierens des LC-Eluenten, ergibt die HPLC-NMR Kopplung eine Beschleunigung und Vereinfachung des Verfahrens, eine erhöhte Empfindlichkeit und nicht zuletzt die Möglichkeit die Messungen in Vollautomation durchzuführen. Dies bedeutet einen hohen Probendurchsatz sowie gute zeitliche Auslastung des Spektrometers.

Anhand des Beispiels pharmakologischer Studien wird demonstriert, wie mittels der LC-NMR Medikamente bzw. deren Metaboliten in Körperflüssigkeiten detektiert und identifiziert werden können. Anhand einer LC-NMR Untersuchung eines Urins, der nach Mißbrauch von Diazepam gewonnen wurde, werden die Möglichkeiten des Einsatzes in der forensischen Toxikologie aufgezeigt.

## 5

### Anwendungsmöglichkeiten der Kapillarelektrophorese in der forensischen Toxikologie

*M. Frost, Institut für Rechtsmedizin der Universität Münster, von-Esmarch-Straße 86, 48149 Münster*

Die Kapillarelektrophorese (CE) stellt eine Technik mit außergewöhnlich hoher Trenneffizienz bei kurzen Analysenzeiten dar. Das Trennprinzip beruht auf den unterschiedlichen Mobilitäten geladener Teilchen im elektrischen Feld (Kapillarzonenelektrophorese, CZE). Bei der micellaren elektrokinetischen Chromatographie (MEKC) wird durch Zugabe von geladenen Micellbildnern eine pseudo-stationäre Phase geschaffen, die durch unterschiedliche An- bzw. Einlagerungstendenzen eine Trennung verschieden polarer Substanzen ermöglicht.

Seit den 80er Jahren ist die CE, bezogen auf die Anzahl der Publikationen, eine der am schnellsten wachsenden Analysentechniken. Dabei erstrecken sich die Anwendungen auf verschiedenste Gebiete, wie z.B. den Bereich der Biochemie (Peptide, Oligosaccharide), Molekularbiologie (DNA, RNA), Umweltanalytik (anorganische Ionen, Pestizide, Tenside), Zellbiologie (ganze Zellen, Bakterien, Viren) u.v.m.. Einen großen Anteil nimmt auch der Bereich der pharmazeutischen und biomedizinischen Wissenschaften ein. Die kapillarelektrophoretische Analytik forensisch relevanter Substanzen entwickelte sich dagegen deutlich langsamer. An Beispielen aus der Literatur und anhand eigenen Untersuchungen werden Anwendungsmöglichkeiten in diesem Bereich aufgezeigt.

#### 1) Trennbeispiele (MEKC, CZE) und Untersuchungen von Betäubungsmittelsicherstellungen

Weinberger und Lurie [Anal. Chem. 1991, 63, 823-827] waren die ersten, die die MEKC auf forensisch relevante Substanzen anwendeten. Modifizierungen führten zu speziellen Methoden zur Untersuchung von Heroin- und Amphetaminproben. Kapillarzonenelektrophoretische Methoden führen bei der Bestimmung von Amphetaminderivaten zu kurzen Analysenzeiten. Im Vergleich zu hochleistungsflüssigkeitschromatographischen Untersuchungsverfahren konnten quantitativ mit der CE erhaltene Ergebnisse bestätigt werden.

#### 2.) Untersuchungen in Körperflüssigkeiten

Die Bestimmung von Wirkstoffen in Körperflüssigkeiten ist aufgrund der relativ geringen Empfindlichkeit der CE problematisch. Mit Hilfe spezieller Injektions- und Detektionsverfahren (laserinduzierte Fluoreszenz, LIF) ist es möglich, LSD bis zu einer Konzentration von 0,2 ng pro ml Vollblut nachzuweisen. Bei möglichen Vergiftungsfällen, bei denen die Substanzen in höherer Konzentration zu erwarten ist, erläutert an einer Dichlorpropvergiftung, bietet die CE aufgrund einer schnellen und einfachen Probenvorbereitung Vorteile gegenüber anderen Verfahren.

#### 3) Enantiomerentrennung

Durch den Zusatz verschiedener chiraler Selektoren (am häufigsten: Cyclodextrine) zum Puffersystem, ist es möglich Substanzen in ihre Enantiomere aufzutrennen. Eine Trennung kann aufgrund unterschiedlicher Wirkungen von Interesse sein. Gute Trennergebnisse liefert die Bestimmung von Methadon und seinem Hauptmetaboliten im Urin und Serum.

6

**Improved method for the detection of  $\alpha$ - and  $\beta$ -amanitin in urine by atmospheric pressure ionization electrospray (API-ES) LC-MS**

*Christian J. Schmitt, Armin A. Weber and Hans H. Maurer, Institute of Pharmacology and Toxicology, Department of Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany*

After ingestion of the toxic mushrooms *amanita phalloides* the amatoxins  $\alpha$ - and  $\beta$ -amanitin may cause severe gastrointestinal disorders and irreversible liver damage (Maurer et al., *Saarl. Ärztebl.*, 8 (1996) 71). Since diagnosis of an intoxication entails a large scale of invasive and expansive therapy, a highly specific detection of amanitins in body fluids is necessary.

Therefore, we have developed an atmospheric pressure ionization electrospray LC-MS procedure for the detection of  $\alpha$ - and  $\beta$ -amanitin in urine after solid-phase extraction on LiChrolut RP 18 columns from Merck (Darmstadt, Germany). The isocratic separation was achieved on a Chromcart CC125/2 Kromasil RP-18 narrowbore column (125 x 2 mm I.D.) with 5  $\mu$ m particle size from Macherey-Nagel (Düren, Germany). The HPLC mobile phase was a 22:78 mixture (v/v) of methanol-ammonium acetate (0.02 mol/l, adjusted to pH 5). The flow-rate for the LC-MS was 75  $\mu$ l/min. Using the single ion monitoring mode with the ions  $m/z$  919 and 920 the amanitins could be detected in urine which allowed us to diagnose intoxications with amanita mushrooms (Maurer et al., *J. Chromatogr. B*, (1997), in press).

In the meantime, this procedure could be improved by developing a gradient elution instead of the isocratic method. Now we are using an ODS Hypersil RP-18 narrowbore column (100 x 2,1 mm I.D.) with 3  $\mu$ m particle size from Hewlett Packard (Waldbronn, Germany). The retention times of the amanitins could be shortened by 30 % at the same flow rate. The peak widths were reduced by 20 % resulting in five times higher peaks. In addition, at the elution time of the amanitins the methanol part of the eluent could be increased (50 % instead of 22 %) resulting in an easier evaporation of the eluent in the electrospray chamber.

7

**Erste Erfahrungen mit der HP-PrepStation: Adaption manueller Methoden zur Festphasenextraktion von Cannabinoiden, Opiaten und Cocain sowie Benzoylecgonin**

*O. Temme, F. Mußhoff und Th. Daldrup, Institut für Rechtsmedizin der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf*

Es wurden zwei Methoden zur Festphasenextraktion für die Anwendung mit einer HP PrepStation (SPE Module) adaptiert und erprobt. Eine Methode zur Extraktion von Cannabinoiden (THC, 11-OH-THC und THC-COOH) aus Urin, Serum oder Blut ergab für Serumvergleiche durchschnittliche absolute Wiederfindungen (bei  $n = 9$  Aufarbeitungen) für die zugesetzten deuterierten Standards ( $d_3$ -THC bzw.  $d_3$ -THC-COOH) von 64 %  $\pm$  2,7 % bzw. 43 %  $\pm$  4,2 %. Die gemessenen Konzentrationen (bei  $n = 10$  Proben) zeigten relative Standardabweichungen von 2,2 % (THC), 5,0 % (11-OH-THC) und 3,2 % (THC-COOH).

Eine Methode zur gleichzeitigen Extraktion von Cocain (Cocain und Benzoylecgonin) und Opiaten (Codein, Dihydrocodein und Morphin) aus Urin, Serum oder Blut ergab für Serumvergleiche durchschnittliche absolute Wiederfindungen (bei  $n = 5$  Aufarbeitungen) für die zugesetzten deuterierten Standards ( $d_3$ -Cocain,  $d_3$ -Benzoylecgonin,  $d_3$ -Codein und

d<sub>3</sub>-Morphin) von 79 % ± 3,0 %, 49 % ± 3,0 %, 56 % ± 4,3 % und 50 % ± 3,6 %. Die gemessenen Konzentrationen (bei n = 6 Aufarbeitungen) zeigten relative Standardabweichungen von 2,1 % (Cocain), 6,4 % (Benzoyllecgonin), 2,0 % (Codein), 2,4 % (Dihydrocodein) und 1,5 % (Morphin).

Neben der reinen Umsetzung der manuellen Methoden wurden Möglichkeiten zur Optimierung des Zeit- und Materialbedarfs erarbeitet; hier spielt die richtige Abfolge der Teilschritte eine wesentliche Rolle.

Es wurden zwei spezielle Techniken zur Umgehung grundlegender Schwierigkeiten entwickelt. Zum einen wurde die Verdünnung von Proben vor der Aufgabe auf eine Extraktionssäule im Leitungssystem der PrepStation durchgeführt. Zum anderen wurde das "Überlaufen" der Vials beim Befüllen mit einem Lösungsmittel durch den Einsatz geeigneter Septen und der Schaffung einer zusätzlichen Entlüftungsöffnung abgestellt.

## 8

### **Column packed immobilized $\beta$ -glucuronidase and arylsulfatase for the cleavage of conjugates - Studies on the stability during storage and during repeated use, and on the avoidance of analyte carry-over**

*Stefan W.H. Tönnes and Hans H. Maurer, Institute of Pharmacology and Toxicology, Department of Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany*

Purified  $\beta$ -glucuronidase and arylsulfatase were coimmobilized on an agarose gel matrix and packed into 3 mL columns. This new approach reduced the reaction time of enzymatic hydrolysis and produced cleaner extracts in comparison to standard enzymatic or acid hydrolysis. We could show that 4-nitrophenyl glucuronide and 4-nitrophenyl sulfate spiked into urine were almost completely cleaved within 15 min and that even morphine conjugates were almost completely cleaved within 60 min in authentic urine samples. Packing the immobilizate into columns facilitated the repeated use and the use within automated sample preparation (Toennes and Maurer, TIAFT Meeting, Interlaken, 1996). However, studies on the stability during storage and during repeated use, and on the avoidance of analyte carry-over were indispensable.

We could show that up to now such columns were stable during a storage time of at least two months. The repeated use for at least 70 incubations (1 h each) did not markedly decrease the hydrolysis yields of morphine conjugates. As we have seen, the carry-over of analytes after incubation and elution of the urine sample could be avoided by rinsing the column with a ten-fold column volume of 20% methanol-acetate buffer (0.1 M containing 0.5 M NaCl, pH 5.2). Known contaminants like dihydrocodeine, ibuprofen, paracetamol, perazine or phenobarbital spiked in very high concentrations into urine could completely be removed from the column. Therefore, we can conclude that cleavage of conjugates by column packed immobilized  $\beta$ -glucuronidase and arylsulfatase may be an effective and convenient alternative for the cleavage of conjugates and may be useful in automation of sample preparation.

## 9

### **Funktion und Einsatz der MS/MS-Technik am Beispiel von GC-Analysen auf Pharmaka und Drogen**

*Hans-Joachim Hübschmann, Axel Semrau GmbH & Co, 45549 Sprockhövel*

Die Leistungsanforderungen analytischer Laboratorien gehen heute über die Möglichkeiten der einstufigen GC/MS hinaus. Falls Analysen komplexer werden und von Überlagerungen mit Verunreinigungen oder durch Matrix als chemisches Rauschen beeinträchtigt werden, kann die MS/MS-Technik mit Erfolg zur Identifizierung, Bestätigung und Quantifizierung eingesetzt werden. Darüberhinaus bieten sich für ein Auftragslabor mit der MS/MS ökonomische Vorteile durch Zeitgewinn und Probendurchsatz. Ion-Trap-GC/MS/MS-Systeme mit externer Ionisierung bieten hierzu als ausgereifte Tischgeräte der neuen Generation alle Voraussetzungen, Routineaufgaben schneller und zuverlässiger zu übernehmen. Triple-Quadrupol-Geräte bieten vergleichbare Möglichkeiten mit zusätzlichen Leistungsreserven.

#### Der analytische Nutzen der MS/MS

- ◆ Bessere Detektionsgrenzen durch eine drastische Verringerung des chemischen Rauschens bei schwierigen Matrices.
- ◆ Höhere Zuverlässigkeit von Analyseergebnissen wegen der gesteigerten Selektivität durch Wahl des Vorläuferions und der Auswertung der Tochterionen.
- ◆ Verminderte Probenaufarbeitung möglich, da trotz Matrix eine spezifizierte Selektion der Vorläuferionen von Analyten erfolgt.
- ◆ Verringerter Zeitbedarf bei der chromatographischen Trennung verkürzt die Entwicklungszeit von Methoden und erhöht den Probendurchsatz pro Tag. Der Feststoff-Einlaß ist nutzbar und kann für bestimmte Anwendungen eine zeitaufwendige Trennung völlig einsparen.
- ◆ Höhere Rentabilität, da schnellere Analysenfolgen mit kürzeren Aufarbeitungen weniger Kosten verursachen und einen höheren Probendurchsatz im Labor ermöglichen.
- ◆ Erweiterte Flexibilität des Labors, da ein GC/MS/MS-System (zusätzlich mit Feststoff Einlaß) eine breitere Palette von Aufgabenstellungen abarbeiten kann.

Die MS/MS-Technik ist universell einsetzbar. Alle Analysen, die heute bereits mit GC/MS durchgeführt werden, können schneller und sicherer mit der GC/MS/MS bearbeitet werden. Viele Proben, an denen GC/MS-Geräte bislang mit schwachem Nachweisvermögen aufgrund einer intensiven Matrix oder der Überlagerung von Massensignalen scheiterten, können jetzt mit der GC/MS/MS mit Erfolg vermessen werden.

## 10

### **Zu Möglichkeiten und Grenzen forensisch toxikologischer Untersuchungen an nicht konventionellen Asservaten**

*Lucia Pötsch und Gisela Skopp, Institut für Rechtsmedizin der Johannes-Gutenberg Universität, Am Pulverturm 3, 55131 Mainz; Institut für Rechtsmedizin der Ruprecht-Karls Universität, Voßstr. 2, 69115 Heidelberg*

Die zunehmende Bearbeitung biopharmazeutischer und pharmakokinetischer Fragestellungen und die Verfügbarkeit von verbesserten und neuen Analysetechniken eröffnen auch die Mög-

lichkeit eines Drogennachweises an nicht invasiv gewonnenen Proben. Speichel, Hautanhangsgebilde, Hautabsonderungen und Sekundärproben scheinen als alternative Untersuchungsmaterialien für forensische Untersuchungen besonders interessant. In einem Überblick werden die Eigenschaften der jeweiligen Untersuchungsmatrix dargestellt sowie auf die Methoden der Probengewinnung und die möglichen Analysenverfahren eingegangen. Anhand von Literaturdaten wird gezeigt, daß unter bestimmten Voraussetzungen abgeschätzt werden kann, welche Aussagemöglichkeiten das jeweilige Untersuchungsmaterial hinsichtlich eines qualitativen oder quantitativen Nachweises sowie einer akuten Beeinflussung oder chronischen Substanzbelastung erwarten lassen und mit welchen Nachweis- und Zeitfenstern gerechnet werden kann. Die Vor- und Nachteile nicht konventioneller Probenmaterialien für forensisch toxikologische Untersuchungen werden gegenübergestellt und Aspekte der Kontaminationsproblematik, der Manipulationsmöglichkeit durch den Probanden sowie der Identitätssicherung diskutiert.

## 11

### **Drogen in Schweiß und Talg - ein Aspekt der Haaranalyse**

*Gisela Skopp und Lucia Pötsch, Institut für Rechtsmedizin der Ruprecht-Karls Universität, Voßstr. 2, 69115 Heidelberg; Institut für Rechtsmedizin der Johannes-Gutenberg Universität, Am Pulverturm 3, 55131 Mainz*

Der menschliche Organismus verfügt über zahlreiche Mechanismen und Systeme, um körperfremde Substanzen rasch wieder auszuschcheiden. Die Haut ist an dieser Ausscheidungsfunktion mitbeteiligt, gleichzeitig kann sie Wirkstoffe aber auch temporär speichern und resorbieren. Ausscheidungsprodukte sind überwiegend Schweiß und Talg, die in entsprechenden Anhangsorganen der Haut gebildet werden. Zu diesen gehören auch die Haare, die daher untrennbar mit den verschiedenen Funktionen der Haut verbunden sind.

Literaturbefunde sprechen für eine Aufnahme von Wirkstoffmolekülen ins Haar nicht nur über die systemische Blutzirkulation in den Follikel, sondern auch über Shuntwege. Es werden die Möglichkeiten prinzipieller Aufnahmewege ins Haar diskutiert, unter besonderer Berücksichtigung einer Substanzaufnahme durch Hautabsonderungen ins keratinisierte Haar. Die Aufnahme von organischen Substanzen ins keratinisierte Haar wurde mit Farbstoffmolekülen visualisiert. Um das Ausmaß einer Inkorporation durch wirkstoffhaltige Hautausscheidungsprodukte zu prüfen, wurden Haare in drogenhaltigem Schweiß und Talg inkubiert und nach dem Waschen die noch vorhandene Konzentration gemessen. Da kosmetisch behandelte Haare ein verändertes Sorptions- und Rückhaltevermögen zeigen, wurden neben natürlichem Haar auch dauergewellte und gebleichte Haare mit in die Untersuchungen einbezogen. Mit den in-vitro Versuchen konnte gezeigt werden, daß wirkstoffhaltige Hautabsonderungen zu einem positiven Substanznachweis im Haar führen können. Allerdings deuten die Ergebnisse darauf hin, daß der Aufnahme über den endogen-exogenen Shuntweg für die untersuchten Substanzen (Opiate, Cocain) nur eine untergeordnete Bedeutung am Analysenergebnis zukommt. Für kosmetisch behandeltes Haar scheint kein wesentlich höheres Risiko eines falsch-positiven Ergebnisses infolge Wirkstoffaufnahme ins keratinisierte Haar zu bestehen.

## 12

### **Nachweis von Clenbuterol in menschlichem Kopfhaar**

*Andreas Gleixner<sup>1</sup> und Heinrich H. D. Meyer, Institut für Physiologie, Forschungszentrum für Milch und Lebensmittel Weihenstephan, Technische Universität München-Freising*

Die Untersuchung hatte zum Ziel, den Nachweis der Einnahme des im Sport als Dopingmittel verbotenen Clenbuterols mit Hilfe der Haaranalyse über einen längeren Zeitraum, als dies mit Blut oder Urin möglich ist, zu erbringen. Dazu wurden Kopfhaarproben von 67 freiwilligen Probanden mit einem Enzymimmuntest (EIA) und zur Bestätigung der Werte mit einer Kombination aus HPLC und EIA auf Clenbuterolrückstände untersucht. Clenbuterol konnte in den Haaren von neun Probanden, die eine definierte Menge Clenbuterol zu therapeutischen Zwecken einnahmen, nachgewiesen werden. Die Konzentrationen von Clenbuterol im Kopfhaar lagen zwischen 25 und 160 ng Clenbuterol/g Haare. Die Anreicherung von Clenbuterol in den Haaren war in dunklen Haaren (~150 ng/g) signifikant höher als in hellen Haaren (~30 ng/g). Dies kennzeichnet den Einfluß der Haarfarbe auf die Höhe der Anreicherung von Clenbuterol in den Haaren. In Haarproben von sechs Probanden, die in der Vergangenheit unbekannte Mengen clenbuterolhaltigen Hustensaft einnahmen, konnten ebenfalls Clenbuterolrückstände gemessen werden. Die Konzentrationen lagen zwischen 3 und 8 ng Clenbuterol/g. In Haarproben von zwei Bodybuildern konnten 50 und 92 ng Clenbuterol/g Haare nachgewiesen werden. Clenbuterol konnte aber nicht in Haarproben von 50 Probanden, die einen Querschnitt durch die lokale Bevölkerung repräsentierten, gemessen werden. Die Ergebnisse zeigen, daß die Haaranalyse für Clenbuterol als Methode für Trainingskontrollen, im Rahmen des Sportdopings, geeignet ist.

<sup>1</sup>: Korrespondenz an: F. Hoffmann-La Roche AG, VFEB, 72/36A, CH-4070 Basel

## 13

### **Drug Testing in Sweat**

*Pascal Kintz, Institut de Médecine Légale, 11 rue Humann, 67000 Strasbourg*

The presence in the body of drugs of abuse is identified by a variety of well-established procedures. The standard in drug testing has been the immunoassay screen followed by the gas chromatography/mass spectrometry confirmation conducted on a urine sample.

Researchers have known since 1911 that drugs are excreted by the body in sweat but until recently no one has been able to develop a practical solution to the problem of capturing sweat before testing. Occlusive bandage consisting of one to three layer of filter paper or pieces of cotton, gauze or towel were previously proposed to collect sweat.

Significant advances have been made during the past years to develop a sweat patch technology, which was recently proposed by Pharmchem<sup>TM</sup> Laboratories. The sweat patch acts as a specimen container for non-volatile and liquid components of sweat, including drugs of abuse. Sweat components are collected on a special absorbent pad, located in the center of the patch. Non-volatile substances from the environment cannot penetrate the transparent film, a semi-permeable membrane over the pad that allows oxygen, water and carbon dioxide to pass through the patch leaving the skin underneath healthy. Over a period of several days, sweat would saturate the pad and slowly concentrate, and drugs present in sweat will be retained. The Drugwipe<sup>TM</sup> (Securetec) appears also as a device for sweat collection.



This presentation will document applications of drug testing in sweat in various clinical and forensic situations.

First, patches were applied to subjects recruited from the laboratory personnel. They received either 90 mg of codeine, 100 mg of phenobarbital, 30 mg of diazepam or 100 mg MBDB. Before administration, 8 patches were applied, that were periodically removed over 7 days. The target drugs were extracted by methanol in presence of deuterated internal standards and then analyzed by GC/MS. Depending on the half-life of each drug a plateau was observed at the 48-72th hour, excepted for phenobarbital. When diazepam was administered in incremental doses, results were suggestive of a relationship between the dose and the concentration in sweat.

In a second part, data will be presented in detoxification centers. Three studies were performed :

- application of patches to heroin abusers and comparison with urine
- application of patches to subjects receiving intravenous heroin as maintenance therapy
- application of patches to subjects under methadone substitution.

In the first study, the sweat patch appeared to be more effective than urine in detecting the use of opiates, as to detected a single drug exposure during 1 week it was necessary to perform 2 urine tests while only 1 sweat test.

After intravenous heroin administration with doses in the range 80 - 1000 mg and patches worn for 24 hours, concentrations ranged from 2.1 to 96.3, 0 to 24.6 and 0 to 11.2 ng/patch for heroin, 6-acetylmorphine and morphine, respectively.

Finally, enantioselective separation of methadone was achieved in sweat by using a CHIRAL AGP column, and LC-ISP/MS. From 20 subjects, it was observed a predominance of the R-isomers in 15 cases, with ratios R to S in the range 0.72 - 2.66, and concentrations of 26-1118, and 28-1114 ng/patch for R-methadone and S-methadone, respectively.

In conclusion, sweat analysis may be an useful adjunct to conventional drug testing. Specimens of sweat can be more easily obtained and with less embarrassment than urine specimens. This new technology may find useful applications in the treatment and monitoring of drug abusers.

## 14

### **Klinische Bedeutung einer DDT-Belastung bei Patienten einer Umweltmedizinischen Ambulanz**

*A. Bimmermann<sup>2</sup>, C. Köppell<sup>1,2</sup>, G. Fahrion<sup>1</sup>, J. Tenczer<sup>3</sup>, V. Schneider<sup>3</sup>, Umweltmedizinische Ambulanz / Virchow-Klinikum<sup>1</sup>, Max-Bürger-Zentrum<sup>2</sup>, Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin<sup>3</sup>, D-14059 Berlin*

**Fragestellung:** Die Erfahrung mit Patienten unserer Umweltmedizinischen Ambulanz zeigt, daß die wenigsten Patienten, die mit einer umweltnoxenbezogenen Krankheitsattribution vorstellig- werden, tatsächlich nachweisbare Umweltbelastungen aufweisen. Überwiegend werden Erkrankungen aus dem psychosomatischen Formenkreis (68 %) diagnostiziert. Die am häufigsten nachzuweisende Belastung, die oft vom Patienten selbst gar nicht vermutet wird, ist DDT bzw. seine Metaboliten DDE und DDD. Es stellt sich die Frage, welche gesundheitliche Relevanz eine DDT-Belastung haben kann.

**Patienten und Methoden:** 552 Patienten wurden in die Untersuchung einbezogen. Die diagnostische Prozedur schloß einen umweltmedizinischen Standardfragebogen (11 Seiten), psychosomatische Standardfragebögen (Giessen-Test, Giessener Beschwerdebogen, Berliner

Stimmungsfragebogen), ein 45minütiges freies Interview mit körperlicher Untersuchung, ein Biomonitoring nur im Verdachtsfall und ggf. Vorortbegehung in der Wohnung oder am Arbeitsplatz ein. Bei 192 Patienten wurde auch verdachtsunabhängig ein Screening u.a. auf DDT, DDE und DDD im Vollblut und z.T. auch in einer glutealen Fettbiopsie (Nadel) mittels ECD-Gaschromatographie durchgeführt.

**Resultate:** Bei 14 Patienten fanden sich erhöhte Blut- oder Fettgewebskonzentrationen an DDT und/oder seiner Metaboliten. In diesen Fällen war die Frage zu prüfen, inwieweit die vom Patienten geplagten Beschwerden ursächlich auf DDT-Belastung zurückgehen könnten. Quelle der DDT-Belastung waren der Einsatz dieses Mittels als Holzschutzmittel in der früheren DDR oder beruflicher Umgang mit DDT. Lediglich in einem Fall bestand bei besonderer individueller Empfindlichkeit offensichtlich ein Zusammenhang zwischen DDT-Exposition und einer Hypertriglyzeridämie von 3.000 bis 4.000 mg/dl auf Grund einer DDT-bedingten Hemmung der Lipoproteinlipase mit konsekutivem Anstieg der Triglyzeride (cholesterinreicher VLDL-Lipoproteinpartikel). Ein Alkoholkonsum wurde glaubhaft verneint, eine ELP-Typ 111 konnte ausgeschlossen werden (ApoE Phänotyp E3E3). Folge der Triglyzeriderhöhung waren rezidivierende Pankreatitiden seit 1985. Expositionsquelle war in diesem Fall die 1985 erfolgte exzessive Ausbringung von DDT mittels Flugzeugen über vom Borkenkäfer befallenen Waldabschnitten in der früheren DDR. Der Patient wohnte unmittelbar am Waldrand.

**Zusammenfassung:** Eine DDT-Belastung findet sich als relativ häufigster Befund bei Patienten einer Umweltmedizinischen Ambulanz. In den meisten Fällen lassen sich die von den Patienten geklagten Beschwerden nicht auf die DDT-Belastung beziehen. Dies gilt nicht für das gleichzeitige Bestehen einer individuell besonders ausgeprägten Hemmbarkeit der Lipoproteinlipase bei einer DDT-Belastung.

## 15

### **On the toxicological detection of dihydropyridine calcium channel blockers and their metabolites in urine by GC-MS after extractive alkylation**

*Joachim W. Arlt and Hans H. Maurer, Institute of Pharmacology and Toxicology, Department of Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany*

Dihydropyridine calcium channel blockers ("calcium antagonists") are widely used vasodilators. In overdose case they may lead to severe cardiovascular disorders like shock. For diagnosis of such an intoxication, a GC-MS procedure was developed for the detection of dihydropyridine calcium channel blockers and their metabolites in urine within a screening procedure for acidic drugs.

The acidic metabolites were extracted as ion pairs with the phase-transfer catalyst tetrahexylammonium hydrogensulfate at pH 12 from urine and methylated with methyl iodide in one step by extractive alkylation while the parent compounds (esters) directly entered the organic phase. The part of the phase-transfer catalyst in the organic phase was removed by solid phase extraction on a diol phase. The compounds were separated by capillary GC and identified by computerized MS in the full scan mode. Mass chromatography with the ions  $m/z$  139, 210, 238, 286, 297, 298, 310, 312, 313 and 318 indicated the possible presence of dihydropyridine calcium channel blockers and/or their metabolites. The identity of positive signals in the reconstructed mass chromatograms was confirmed by comparison of the full mass spectra underlying the peaks with the reference spectra recorded during these studies.

The information on the all-over-all recovery (70-90 %) and on the limit of detection (50 ng/mL, S/N 3) of the parent compounds was of minor relevance, since the parent compounds were excreted in urine in only minor amounts. Therefore, we studied the detectability of these drugs after therapeutic dosage by determination of their metabolites in urine. Doing so, we were able to prove in humans the intake of amlodipine, felodipine, nifedipine, nimodipine and nitrendipine. Isradipine, nicardipine, nilvadipine and nisoldipine could up to now only be detected in rat urine, since human samples were not yet available.

16

### **Massenmedien: Fallgrube für Wissenschaftler ?**

*H. Frankhauser, Basel*

Ein Abstract lag bei Redaktionsschluß noch nicht vor.

17

### **"Sensationelle Wende entschied Prozeß zugunsten des Angeklagten" - Blutprobe mit 1,44 ‰ Ethanol enthielt kein Ethylglucuronid**

*Georg Schmitt, Peter Drönner, Rolf Aderjan, Institut für Rechtsmedizin der Universität Heidelberg, Voss-Str. 2, D-69115 Heidelberg*

Wir berichten über den Fall eines 33jährigen Kriminalhauptmeisters und Drogenfahnders des LKA Hessen, der im April des Jahre 1995 nach 20 Dienststunden einen folgenschweren Pkw-Unfall verursachte, bei dem seine 22jährige Kollegin zu Tode kam. Die ca. 3 ½ Stunden nach dem Unfall dem bewußtlosen Beamten entnommene Blutprobe enthielt 1,44 Promille Ethanol. Dies führte zur Verurteilung wegen fahrlässiger Tötung. Im Berufungsverfahren im November 1996 wurde der Angeklagte nach einer Analyse von Ethylglucuronid (EtG) - in seit der Entnahme eingefrorenem Serum - bezüglich der Trunkenheitsfahrt freigesprochen. Diese sei nicht beweisbar. Zur Begründung stützte sich das Gericht auf unserer Gutachten mit folgenden chemisch-toxikologischen Untersuchungsergebnissen:

- 1) Das bei oraler Alkoholfuhr in der Leber und bei dem Beschuldigten im Trinkversuch ebenfalls gebildete Stoffwechselprodukt des Ethanols, Ethylglucuronid, war bei einer Nachweisgrenze von 0,1 mg/L im Serum nicht faßbar.
- 2) Der Angeklagte hatte in einem Trinkversuch EtG gebildet. Nach dem Konsum von 1 ½ L Bier fand sich eine maximale Serumkonzentration von 1,3 mg/L.
- 3) EtG erwies sich in eingefrorenem Serum als lagerbeständig. Darüberhinaus waren das in der Klinik zur Schmerzbekämpfung verabreichte Morphin und seine beiden Glucuronide in der betreffenden Serumprobe nachzuweisen.
- 4) Die Blutprobe wurde nicht den Richtlinien entsprechend im Krankenhaus aus einem Infusionsbesteck entnommen. Eine Verunreinigung mit einem in der Klinik verwendeten ethanolhaltigen Desinfektionsmittel war nicht auszuschließen.

## 18

### **Studies on the metabolism and toxicological detection of the amphetamine like anorectic mefenorex in human urine by GC-MS and fluorescence polarization immunoassay (FPIA)**

*Thomas Kraemer, Ingo Vernaleken and Hans H. Maurer, Institute of Pharmacology and Toxicology, Department of Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany*

Studies on the metabolism and on the toxicological analysis of mefenorex (*R,S*-N-(3-chloropropyl)- $\alpha$ -methylphenethylamine, *MF*) using GC-MS and FPIA are described. The metabolites were identified in urine samples of volunteers by GC-MS after enzymatic cleavage of conjugates, extraction and acetylation. Besides unchanged *MF*, 13 metabolites could be identified. Three partially overlapping metabolic pathways could be postulated: 1) alteration of the phenyl ring by one- and two-fold hydroxylation followed by methylation of one of the hydroxy groups, 2) side chain degradation by N-dealkylation to amphetamine and hydroxy-amphetamine with further metabolism via oxidative N-deamination to deamino-oxo derivatives and 3) hydrolysis of the chloropropyl side chain to the hydroxypropyl side chain. Studies without cleavage of conjugates showed that the hydroxy metabolites were excreted as glucuronides or sulfates.

For GC-MS detection, the systematic toxicological analysis including acidic hydrolysis, extraction at pH 8-9 and acetylation was suitable (*LOD*: 50 ng/mL for mefenorex and 100 for amphetamine, *S/N* 3). After ingestion of 80 mg of *MF*, *MF* and its specific (non dealkylated) metabolites could only be detected for up to 32 h whereas amphetamine could be detected for up to 68 h. Between 32-68 h after ingestion, only amphetamine but no *MF* or its specific metabolites were detectable. Therefore, misinterpretation can occur.

Misinterpretation may also occur, when the urine samples are monitored by amphetamine immunoassays. *MF* and some of its metabolites interfere with the Abbott TDx assays amphetamine/methamphetamine II (AM/MA II) and AM class (cross-reactivity of *MF*: 0.1-0.4 % for the AM/MA II; 152-427 % for the AM-class assay). Both immunoassays tested gave positive results up to 68 h after ingestion taking into consideration the cut-off values recommended by the manufacturer. All the positive immunoassay results could be confirmed by the described GC-MS procedure. However, the intake of *MF* instead of amphetamine cannot be differentiated in the time window of 32-68 h after ingestion of *MF*.

## 19

### **Enantioselektive Analyse von d,l-Methadon bei 35 Substituierten nach Umstellung von l-Methadon auf d,l-Methadon**

*A. Schmoldt, Stefanie Iwersen und G. Chorzelski, Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, Butenfeld 34, D-22529 Hamburg*

Methadonsubstituierte werden aus Kostengründen immer häufiger von Levomethadon (Polamidon<sup>R</sup>) auf das Methadonracemat umgestellt. Bekanntermaßen ist nur die l-Form pharmakologisch aktiv, so daß bei einer Umstellung auf das Racemat, rein rechnerisch, die Dosis verdoppelt werden müßte. Gelegentlich wird jedoch berichtet, daß bei Dosisverdopplung die Patienten Entzugserscheinungen zeigen, die bei vorheriger halber Dosis Levomethadon nicht auftraten.

Methode: Bei 35 Levomethadonsubstituierten (Dosis 15-125 mg/die) wurden kurz vor der nächsten Methadonapplikation Blutproben entnommen und die entsprechenden l-Methadonspiegel bestimmt. Nach Umstellung auf das Methadonracemat wurden erneut Blutproben genommen, in denen dann, nach entsprechender Festphasenextraktion, die l- und d-Methadon Enantiomere an einer chiralen stationären Phase mittels HPLC getrennt und UV-photometrisch gemessen wurden.

Resultate: Es zeigten sich beträchtliche inter- und intraindividuelle Unterschiede:

1. In Bezug auf die verabreichte Dosis und die erreichten Blutspiegel.

2. In Bezug auf das Verhältnis von l-Methadon zu d-Methadon.

Offensichtlich führen Unterschiede in Resorption und Metabolismus zu stark schwankenden d- und l-Methadonkonzentrationen bei den Substituierten. Daraus ist zu folgern, daß für jeden Substituierten die individuelle Dosis gefunden werden muß. Bei Unverträglichkeiten des Racemats und auch bei der Bewertung von Todesfällen mit fraglicher Methadonintoxikation sowie bei fraglicher Herkunft des Methadons (Schwarzmarkt, Arztpraxis, Drogenambulanz), ist deshalb eine enantioselektive Methadonanalyse zu fordern.

## 20

### Lebensmittel auf Hanfbasis und deren forensische Bedeutung

*A. Alt, Institut für Rechtsmedizin der Universität Ulm, Prittwitzstraße 6, D-89075 Ulm*

Die Hanfpflanze erlebt in jüngerer Zeit eine Renaissance. Der gewerblich genutzte Anbau von THC-armen Hanfsorten ist nur mehr genehmigungspflichtig und wird in zunehmendem Maße betrieben. Im Rahmen dieser Wiederbelebung des Hanfanbaus etabliert sich auch ein Markt für Körperpflegeprodukte und Lebensmittel auf Hanfbasis. Neben Kosmetika (Shampoos, Seifen, Body Milks etc.) sind auch zum Verzehr geeignete Lebensmittel auf Hanfbasis im Handel freierhältlich, so z.B. Hanfspeiseöle, Frucht-Schnitten bzw. Müsli Schnitten, Hanf-Tofu-Pastete, Hanfmehl, Hanfmus, Hanf-Likör und weitere. In allen o.g. Lebensmitteln konnte THC sowie zum Teil Cannabinol und Cannabidiol nachgewiesen werden. In einem Hanfspeiseöl konnte 150 µg THC pro ml Öl festgestellt werden. Bereits wenige Stunden nach oraler Aufnahme dieses Speiseöls war im Urin 11-nor-delta<sup>9</sup>-THC-9-Carbonsäure, der Hauptmetabolit von delta<sup>9</sup>-THC, nachzuweisen. Nach einer Einnahme von 40 - 90 ml Öl konnte im Urin bis zu 80 Stunden THC-Carbonsäure gefunden werden. Nach Aufnahme von 40 ml Hanföl konnten in Blutproben forensisch relevante THC-Serumspiegel nachgewiesen werden. Auch nach Aufnahme von bestimmten Hanf-Müsli-Schnitten konnte THC-Carbonsäure im Urin von Probanden nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind von praktischer Bedeutung, da bei einem positiven THC bzw. THC-Carbonsäure Befund bei Blut- und Urinuntersuchungen von einer vorangegangenen Aufnahme von Cannabis, in der Regel in Form von Haschisch oder Marihuana, ausgegangen werden kann. Die Ergebnisse der Studien zeigen, daß positive Befunde bei Urin- und Blutproben auch durch die Aufnahme von freiverkäuflichen Lebensmitteln auf Hanfbasis möglich sind.

21

**Nachweis von Morphin, Morphin-3-Glucuronid, Morphin-6-Glucuronid und 6-Monoacetylmorphin mittels APCI-LC-MS bei Heroin-Todesfällen**

*Maciej J. Bogusz, Rolf-Dieter Maier und Sarah Drießen, Institut für Rechtsmedizin der RWTH Aachen, Klinikum, 52057 Aachen*

Nach Festphasenextraktion von Blut, Cerebrospinalflüssigkeit (CSF), Augenkammerwasser (VH) und Urin wurden Morphin (Mo), Morphin-3-Glucuronid (M-3-G), Morphin-6-Glucuronid (M-6-G) und 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) nach HPLC-Trennung mittels Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry (APCI-MS) quantitativ bestimmt. Im SIM (pos. Ionen) wurden die Ionen 286 (Mo), 286 und 462 (M-3-G und M-6-G), 211, 268 und 328 (6-MAM) sowie 289 (Mo-D<sub>3</sub>, als IS) aufgenommen. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 82 und 89%, die Nachweisgrenze für Mo bei 0.1 µg/l, für 6-MAM bei 0.5 µg/l, für M-3-G und M-6-G bei 1 µg/l.

Die Mo-Blutkonzentrationen bei 21 letalen Heroin-Intoxikationen variierten in einem Bereich von 8 bis 1539 µg/l, die M-3-G Konzentrationen zwischen 111 und 941 µg/l, die M-6-G-Werte zwischen 32 und 322 µg/l sowie die 6-MAM-Werte zwischen 0 und 73 µg/l. Die Konzentrationen von allen Substanzen in CSF lagen regelmäßig niedriger als im Blut und im VH wiederum niedriger als in CSF.

Die nachgewiesenen Mo-Blutspiegel wurden zu den molaren Verhältnissen von M-3-G/Mo und M-6-G/Mo in Relation gesetzt und die vorhandenen Vorgeschichten ausgewertet. Dabei zeigte sich, daß niedrige M-3-G/Mo- bzw. M-6-G/Mo-Quotienten bei tödlichen Heroinüberdosierungen auf eine kurze Überlebenszeit nach Heroinzufuhr hindeuten.

22

**Eine neue Delikatesse aus der Drogenszene: Honig mit Psilocybe-Pilzen**

*Maciej J. Bogusz, Rolf-Dieter Maier, Achim Schäfer und Manfred Erkens, Institut für Rechtsmedizin der RWTH Aachen, Klinikum, 52057 Aachen*

1996 tauchten zum ersten Mal in mehreren Fällen bei der Sicherstellung von anderen Betäubungsmitteln auch Honigzubereitungen aus der Niederlande auf. Aus der Beschriftung der 50-ml-Gläschen ergaben sich Hinweise auf Beimengungen von *Stropharia cubensis* (heute als *Psilocybe cubensis* bezeichnet). Die Gläschen enthielten ca. 50 ml Honig mit dunklen, feinen Partikeln, die sich nach längerem Stehen an der Oberfläche anreicherten.

Die Partikel wurden abgetrennt und mikroskopisch sowie chemisch-analytisch untersucht. Die mikroskopischen Untersuchungen ergaben bei allen Proben Scheingewebe (Plektenchym) und Sporen mit charakteristischen Merkmalen eines Pilzes aus der Gattung *Psilocybe*. Nach Extraktion des abgetrennten Materials wurde chromatographisch (HPLC/DAD und APCI-LC-MS) Psilocin aufgefunden. Der Nachweis von Psilocybin ließ sich nicht führen. Eine genaue Bestimmung der Gesamtmenge an Psilocin war wegen der komplexen Matrix nicht durchführbar.

## 23

**Erste Erfahrungen mit CEDIA DAU zum Nachweis von Betäubungsmitteln im Blut**

*Rickert und Th. Daldrup, Institut für Rechtsmedizin der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf*

Es wurden in einer vergleichenden Studie Nativseren, -blute und gespikete Serumproben direkt mittels CEDIA DAU (Fa. Boehringer Mannheim, Hitachi 911) und mittels FPIA (Fa. Abbott, ADx) nach Aceton-Fällung untersucht (s. a. Mosbach GTFCH-Symposiumsband 1995, S. 45-53). Gemessene Parameter waren Cannabinoide, Cocain, Opiate, Amphetamine und Benzodiazepine.

Es zeigte sich in der Mehrzahl der Fälle eine gute Übereinstimmung bei den qualitativen Analysen, nicht jedoch bei den semiquantitativen Ergebnissen. Dies deutet auf erheblich unterschiedliche Kreuzempfindlichkeiten der Antikörper hin. Bei Vollblutproben traten Schwierigkeiten auf, so daß eine Probenvorbereitung notwendig erscheint.

Das CEDIA- DAU- System besitzt mehrere Vorteile gegenüber dem ADx:

1. Direktmessungen im Serum sind möglich.
2. Die semiquantitative Bestimmung von LSD gehört zum Parameterspektrum.
3. Ethanol kann gleichzeitig mit den Betäubungsmitteln bestimmt werden.

## 24

**Bestimmung von alpha-Amanitin durch Hemmung der RNA-Polymerase II**

*Astrid Meyboom 1), Herwig Weißer 1) und Walter Martz 2), 1) Institut f. Physiologische Chemie, Medizinische Hochschule, Hannover, 2) Institut f. Rechtsmedizin, Zentralkrankenhaus St. Jürgen, Bremen*

Die Hemmung von RNA-Polymerase II durch alpha-Amanitin (Fiume 1966) diene als Grundlage zur Entwicklung eines Bioassays alternativ zum Radioimmunoassay, der am häufigsten zur Amanitin-Diagnostik verwendet wird.

Zu diesem Zweck war es notwendig, ein partiell angereichertes Präparat von eukaryontischer RNA-Polymerase II darzustellen.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Verfahren (Kedinger 1972, Preston 1975) wurde in der vorliegenden Arbeit von einer Zellkernpräparation aus Leber, dem Zielorgan, ausgegangen. Wegen der Vergleichbarkeit des Verdauungssystem erschien uns die Spezies Schwein besonders geeignet.

Der maximale Anreicherungsfaktor des Enzympräparats betrug 85, bezogen auf die aufgeschlossene Kernfraktion. Bei Stabilisierung der Polymerase mit 59% (w/v) Glycerin ist das Enzym ohne nennenswerten Aktivitätsverlust bei -80°C mindestens 50 Tage haltbar.

Die großen Untereinheiten des Polymerase-Komplexes konnten durch SDS PAAGE und Immunfärbung nachgewiesen werden.

Die Aktivität von RNA-Polymerase II wurde anhand des Einbaus von <sup>3</sup>H-markiertem Uridintriphosphat unter Verwendung einer Matrize von DNA aus Kalbsthymus bestimmt. Bei Einwirkung von alpha-Amanitin unterbleibt die Synthese von Polynukleotiden. Diese Hemmbarkeit der RNA-Polymerase ist für die Quantifizierung von alpha-Amanitin in biologischen Material (Plasma/Urin) prinzipiell geeignet. Der Empfindlichkeitsbereich beträgt bei exakter Kalibrierung der Standardproben 10 bis 40 ng Amanitin pro ml Probe. Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen Hemmung und Konzentration.

Die Empfindlichkeit des Polymerase-Hemmtests liegt im Erfassungsbereich der kommerziellen RIA-Methode.

25

### **Blood and hair analyses for clozapine**

*V. Cirimele, P. Kintz, O. Gosselin and B. Ludes, Institut de Médecine Légale 11, rue Humann, 67085 Strasbourg*

Clozapine was investigated in plasma and hair of 25 patients treated with a daily dose of 250, 300, 400, 600 or 700 mg.

Blood clozapine was estimated by liquid chromatography coupled to diode array detection.

Hair specimens, after dichloromethane decontamination, were cut into small pieces and incubated in methanol overnight at 45° C, in presence of 200 ng chlorpromazine-d3 used as internal standard. The target drugs were quantified by GC/MS.

In all the specimens, it was possible to identify clozapine with concentrations ranging from 30 to 652 µg/l and from 0.80 to 34.24 ng/mg in plasma and hair, respectively. These results were in the range of those previously observed (1).

Our results are in agreement with the lack of relationship between daily dose and plasma concentration and daily dose and hair concentration.

The idea of using quantitative drug measurements in hair to ascertain whether a patient has taken his treatment exactly as prescribed will remain inapplicable.

1. Kintz P., Cirimele V., Gosselin O., Edel Y., Mangin P., Testing human hair for clozapine, *Ann. Biol. Clin.*, 54, 1996, 315-316.

26

### **Improvement of sample preparation for the STA - Acceleration of acid hydrolysis and derivatization procedures by microwave irradiation**

*Armin A. Weber and Hans H. Maurer, Institute of Pharmacology and Toxicology, Department of Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany*

For systematic toxicological analysis by GC-MS, acid hydrolysis, extraction at pH 8-9 and acetylation have been proved to be a very effective sample preparation for urine samples (Maurer, *J. Chromatogr.* 580 (1992) 1). To reduce the relatively long working-up time, we used microwave irradiation for acceleration of the acid hydrolysis and the acetylation according to methods described by Lagana et al. (*Anal. Biochem.* 215 (1993) 266) and Thompson and Dasgupta (*Clin. Chem.* 40 (1994) 1703; *Am. J. Clin. Pathol.* 104 (1995) 187).

*Methods:* A 5 ml volume of urine was hydrolyzed under microwave irradiation with 1.5 ml of 30% HCl for 5 min in a fixed headspace vial. After transferring the sample into a centrifuge tube pH 8-9 was adjusted (2 ml of 10 mol/l aqueous NaOH, 5 ml of 30% aqueous ammonium sulphate). This solution was extracted with 5 ml of a dichloromethane-isopropanol-ethyl acetate mixture (1:1:3; v/v/v). After phase separation by centrifugation (5 min, 1500g), the organic layer was evaporated to dryness. The residue was dissolved in 100 µl of methanol and transferred into a sample vial. After evaporation the sample was acetylated with 50 µl of acetic anhydride-pyridine (3:2; v/v) for 5 min under microwave irradiation. After evaporation of the derivatization mixture, the residue was dissolved in 50 µl of methanol and 0.5-1 µl were injected into the GC.



For the evaluation of the efficacy of the microwave irradiation, we have analyzed several authentic urine samples using standard hydrolysis (15 min) and microwave assisted hydrolysis (5 min). The extracts after both hydrolysis procedures were each derivatized by standard acetylation (30 min) and microwave assisted acetylation (5 min). These 4 different samples were analyzed by full scan GC-MS. Comparison of the peak areas of different analytes showed that the hydrolysis as well as the acetylation under microwave irradiation lead to similar results as under standard conditions. Therefore, we can conclude that microwave assisted sample preparation for the STA is at least 3 times faster, so that there should be no more reason to renounce hydrolysis and/or derivatization to save time.

27

### **Nachweis von Benzodiazepinen in Haaren mittels Kapillarelektrophorese**

*M. Yegles und R. Wennig, Laboratoire National de Santé, Division Toxicologie, Centre Universitaire de Luxembourg 162A, av de la Faiëncerie, L-1511 Luxembourg*

Die Kapillarelektrophorese wurde noch kaum verwendet, um Drogen und Medikamente in Kopfharen zu bestimmen. Wir überprüften diese Trennmethode für die Bestimmung von vier Benzodiazepinen (Diazepam, Nordiazepam, Oxazepam und Aminoflunitrazepam) in Kopfharen von Drogentoten. Nach dem Waschen wurden die Haare mit einem Thiolysepuffer behandelt, die Extraktion erfolgte mit Hilfe von C18 Säulen. Der Extrakt wurde in einer Pufferlösung aufgenommen und die Benzodiazepine mittels Kapillarzonenelektrophorese getrennt (Diode Array Detektor 220 nm). Als interner Standard diente Nitrazepam. Die Trennung erfolgte in einem sauren Elektrophoresepuffer (pH = 2,3), in welchem die vier Benzodiazepine gut getrennt werden konnten. Die Nachweisgrenze lag bei gespikten Proben im Bereich von 1 ng/mg Haare. In Haaren von Drogentoten, bei welchen wir Benzodiazepine mit GC/MS bestimmt hatten, war es möglich mit Kapillarelektrophorese diese Medikamente zu bestätigen. Diese ersten Ergebnisse zeigen, daß die Kapillarelektrophorese (z.B. bei thermolabilen Substanzen) durchaus komplementär zu GC/MS in der Haaranalytik eingesetzt werden kann.

28

### **Detection and quantification of drugs using ToF-SIMS**

*F. Saldi<sup>2</sup>, R. Wennig<sup>1</sup>, H.N. Migeon<sup>2</sup>, C. Simon<sup>2</sup> and S. Schneider<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Laboratoire National de Santé, Division de Toxicologie, Centre Universitaire de Luxembourg, 162A, av. de la Faiëncerie, L-1511 Luxembourg*

<sup>2</sup> *Laboratoire d'Analyse de Matériaux, Centre Universitaire de Luxembourg, 162, av. de la Faiëncerie, L-1511 Luxembourg*

Detection and quantification of licit and illicit drugs in biological samples is often time consuming due to the need of extensive sample preparation before analysis.

A fast accurate method for simultaneous detection and quantification with minimal work-up of the specimen would be an important progress in emergency situations and routine analysis of urine and serum specimens.

High performance time of flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS) characterised by high mass resolution and extreme sensitivity has been applied to the detection of morphine and

bromazepam in serum and urine specimens. Optimum emission of secondary ions is obtained from silver substrates covered by only a mono or submono-layer of molecule. The limit of detection has been found to be less than 1 mg/L for morphine and bromazepam in preliminary studies using untreated specimens. Other interesting molecules in forensic and clinical toxicology will be investigated in the future.

## 29

### **DRUGWIPE - ein Wischtest zum Nachweis illegaler Drogen in Schweiß**

*Franz Aberl<sup>1</sup>, Johannes Bonenberge<sup>1</sup> und Hans Sachs<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Securetec GmbH, Rosenheimer Landstr. 129, D-85521 Ottobrunn und <sup>2</sup>Institut für Rechtsmedizin, Fraunlobstr. 7a, D-80337 München*

*DRUGWIPE* ist ein Schnelltest zum Nachweis illegaler Drogen auf Oberflächen und für einen einfachen und schnellen Einsatz vor Ort konzipiert. Technologisch beruht der Test auf dem Frontline<sup>®</sup> Urin-Teststreifen der Fa. Boehringer Mannheim. Der Nachweis illegaler Drogen auf Oberflächen ist besonders für die Verdachtsgewinnung und -bestätigung bei der Suche nach illegalen Drogen interessant. Hauptsächlich Anwendung findet *DRUGWIPE* bisher zur Kontrolle von Personen und Gepäck an Grenzübergängen.

Derzeit sind 3 verschiedene *DRUGWIPE* - Typen verfügbar. Ein Test erkennt spezifisch Heroin und Heroinmetaboliten, ein Test weist Kokain und dessen Metaboliten nach und ein Test ist spezifisch für die Gruppe der Cannabinoide. Ein weiterer Test, der gleichzeitig die wesentlichen Amphetamin- bzw. Methamphetaminderivate erkennt, ist in Vorbereitung. Die Nachweisgrenzen der *DRUGWIPE*-Wischttests liegen im Bereich von 10 bis 50 ng und ermöglichen damit den Nachweis von Drogenspuren, die mit bloßem Auge nicht sichtbar sind.

Die Neufassung des §24a StVG zielt auf eine effektive Bekämpfung des Drogenmißbrauchs im Straßenverkehr. Zur Erkennung drogenbeeinflusster Fahrzeugführer bei Kontrollen auf der Straße werden derzeit unterschiedliche Verfahren erprobt. *DRUGWIPE* wird seit Anfang 1996 im Institut für Rechtsmedizin München und seit August 1996 bei der Verkehrspolizei Baden-Württemberg für Anwendungen bei Verkehrskontrollen evaluiert. Grundlage ist hier der Nachweis von Drogen bzw. deren Metaboliten im Schweiß verdächtiger Verkehrsteilnehmer. Es wird der aktuelle Stand der Untersuchungen zum Nachweis von Drogen in Schweiß vorgestellt und die spezifischen Einsatzvorteile des *DRUGWIPE* Drogenschnelltests bei Verkehrskontrollen diskutiert.

## 30

### **Automatisierte Suchtkontrolle von Betäubungsmitteln im Serum mit der HP-Prepstation und GC-MS**

*Klaus Harzer, Amt für Umweltschutz/Chemisches Institut Stuttgart*

Mit der HP-Prepstation ist eine automatische Aufarbeitung von Serum auf Suchtmittel möglich. Erfasst werden Opiate (Morphin, Codein, Dihydrocodein), Cocain und Benzoyllecgonin, Tetrahydro-cannabinolcarbonsäure (THC-COOH), Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDA und MDE. Nach der Extraktion wird zunächst silyliert und mit GC-MS im SIM-Modus auf Opiate, Cocain, Benzoyllecgonin und THC-COOH geprüft, anschließend wird derselbe Extrakt acetyliert und dann mit der gleichen Methodik auf Amphetamine geprüft.

Die einzelnen Schritte für die Aufarbeitung mit der Prepstation und die GC-MS-Bedingungen werden dargestellt und die Ergebnisse am Beispiel der GTFCh-Ringversuche demonstriert.

31

### Anwendung einer Festphasenextraktionsmethode für pharmakologische und toxikologische Problemstellungen in komplexen biologischen Matrices

B. Herber<sup>1</sup>, A. Hanses<sup>1</sup>, J. Röhrich<sup>2</sup>, H. Spahn-Langguth<sup>3</sup>, G. Kauert<sup>2</sup> und P. Langguth<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main, Deutschland, <sup>2</sup>Zentrum der Rechtsmedizin, Universitätsklinikum, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main, Deutschland, <sup>3</sup>Institut für Pharmazeutische Chemie, Martin-Luther-Universität, Halle/Saale, Deutschland, <sup>4</sup>ASTRA HÄSSLE AB, Mölndal, Schweden

**Einleitung:** Bei bestimmten, vor allem tierpharmakokinetischen Fragestellungen, ist es notwendig, die gesuchten Analyten zur Abtrennung endogener Störsubstanzen und zur gleichzeitigen Anreicherung aus komplexen Matrices zu extrahieren, sofern bei den entsprechenden Untersuchungen auf die Anwendung von radioaktiv markierter Substanz (z.B. <sup>14</sup>C, <sup>3</sup>H) verzichtet werden soll (Arbeitssicherheit, experimenteller Aufwand, Kosten).

Eine toxikologische Notfallanalytik verlangt außerdem - z.B. bei Vorliegen von Mageninhalt - eine schnelle Probenvorbereitung mit der Möglichkeit, ein weites Spektrum in Frage kommender Substanzen zu isolieren.

Übliche Flüssig/Flüssig-Extraktionsverfahren bergen die Nachteile der aufwendigen Optimierungsarbeit für verschiedene Analyten, häufig geringer Wiederfindungsraten, der Koextraktion interferierender Substanzen sowie Verbrauch größerer Mengen an organischen Lösungsmitteln [1,2]. Zudem ist eine substanzspezifisch optimierte Probenvorbereitung meist nicht auf ein anderes analytisches Prinzip (z.B. Wechsel von GC/MS zu HPLC) übertragbar.

Ziel der vorgestellten Arbeit war es daher eine einfache, schnell durchführbare und robuste Festphasenextraktionsmethode zu entwickeln, die die Isolierung eines breiten Spektrums an Pharmaka aus komplexen Matrices mit der anschließenden Anwendung verschiedener analytischer Methoden erlaubt.

**Methode:** 1,0 g Gewebehomogenat bzw. Mageninhalt wurden mit einem Phosphatpuffer (0,1 mol/l; pH 6,0) versetzt und hydrolysiert. Nach Zentrifugation wurde der Überstand auf eine vorkonditionierte C<sub>18</sub>-Festphasenextraktions-Kartusche (BAKERBOND spe\* Octadecyl C<sub>18</sub>) aufgegeben. Nach verschiedenen Waschschritten (Wasser, Wasser/Methanol, verdünnte Essigsäure) erfolgte zunächst die Elution der sauren Inhaltsstoffe, dann die Elution der basischen Substanzen. Als analytische Methode wurde entweder eine GC/MS-Kopplung oder ein HPLC-Verfahren mit Fluoreszenzdetektion verwendet.

**Ergebnisse:** Im Rahmen von pharmakokinetischen Untersuchungen konnte in Rattenhirnhomogenat mit anschließender HPLC-Trennung und Fluoreszenzspektroskopie Codein quantitativ bestimmt werden. Die Eichung wurde in einem Bereich zwischen 10 ng/g und 400 ng/g durchgeführt; die Wiederfindung der hier vorgestellten Festphasenextraktionsmethode lag bei 98 %, im Gegensatz zu 60 % bei einer bereits optimierten Flüssig/Flüssig-Extraktion. Als interner Standard diente bei diesem Verfahren Ethylmorphin.

In einer weiteren pharmakokinetischen Studie wurde der Cocain- bzw. Benzoylcgoningehalt in Rattenhirnhomogenat untersucht. Die hierbei erzielten Wiederfindungsraten lagen für beide Substanzen bei nahe 100 %. Es zeigte sich, daß eine Kalibrierung im Bereich zwischen 10 ng/g und 1000 ng/g sowohl für Cocain als auch Benzoylcgonin möglich war. Als analytische Methode wurde ein GC-Verfahren mit MS-Detektion verwendet.

Als Anwendung für forensisch toxikologische Fragestellungen wurde das Extraktionsverfahren auf humanes Lungengewebe und Mageninhalt übertragen. Auch hier zeigte sich die Leistungsfähigkeit der Methode. Nach Anwendung der Festphasenextraktion konnten mittels GC/MS Cocain und gängige Opiate nachgewiesen werden, wobei die Bestimmungsgrenzen unter 10 ng/g Untersuchungsmaterial lagen.

**Schlußfolgerung:** Mit der in dieser Arbeit vorgestellten Festphasenextraktionsmethode war es möglich, mit vergleichsweise geringem Aufwand nahezu quantitative Extraktionsausbeuten für verschiedene Pharmaka aus komplexen Matrices (Gewebehomogenate, Mageninhalt) zu erreichen. Das Verfahren erwies sich in Verbindung mit unterschiedlichen analytischen Methoden (HPLC mit Fluoreszenzdetektion; GC mit MS-Detektion) als gut anwendbar.

**Literatur:**

J.T. Stewart et al., *Anal. Lett.*, 17(B16), 1811-1826 (1984)

M. Balíková und J. Vecerková, *J. Chrom. B*, 656, 267-273 (1994)

**32**

**Nachweis von Cocain, 6-Monoacetylmorphin und MDMA in Haaren mit Flow-Injection Ionspray MS/MS**

D. Heß<sup>1</sup>, J. Röhrich<sup>1</sup>, M. Svoboda<sup>2</sup>, K. Schmidt<sup>1</sup> und G. Kauert<sup>1</sup>, <sup>(1)</sup>Zentrum der Rechtsmedizin, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt, Kennedyallee 104, 60596 Frankfurt am Main; <sup>(2)</sup>Perkin Elmer ELSC, Paul-Ehrlich-Str. 17, 63225 Langen

Der Nachweis von Betäubungsmitteln in Haaren zählt inzwischen zu den routinemäßigen forensisch-toxikologischen Untersuchungen. Unter den derzeit angewendeten Extraktionsmethoden für Betäubungsmittel aus Haarproben stellt die Extraktion mit Methanol unter Ultraschall ein effizientes und leicht durchführbares Verfahren dar. Die derartig gewonnenen Haarextrakte sind jedoch stark matrixhaltig, was die übliche GC-MS-Analytik erschwert. Hier ermöglicht der Einsatz der Flow-Injection Ionspray MS/MS (Triple Quadrupol Massenspektrometer, Atmospheric Pressure Ionisation) eine hochspezifische, äußerst empfindliche Drogendetektion, ohne jede weitere Probenaufarbeitung und, im Unterschied zur GC-MS/MS, ohne chromatographische Auftrennung. So konnte Cocain, 6-MAM und MDMA mittels Flow-Injection Ionspray MS/MS (PE/Sciex API 300) problemlos im Rohextrakt der Methanol/Ultraschall-Aufarbeitung von authentischen Haarproben nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenzen lagen bei ca. 3 pg/mg Haare.

**33**

**Toxikologie und Archäologie - Archäometrische Untersuchungen von Nachgeburtsgefäßen**

F. Mußhoff<sup>1</sup> und K. Alt<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Institut für Rechtsmedizin der Universität Bonn, Stiftsplatz 12, 53111 Bonn; <sup>2</sup>Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität Freiburg

Im Zusammenhang mit archäologisch begleiteten Stadtkernausgrabungen häufen sich Funde frühneuzeitlicher Gefäße aus Kellerräumen, die mit der Nachgeburtsentsorgung in Verbindung gebracht werden. Um diese These belegen zu können, sind u.a. chemische Analysen in sogenannten archäometrischen Untersuchungen des Gefäßinhaltes von Bedeutung. Der Nachweis von typischen Steroidhormonen der Plazenta sowie insbesondere von Cholesterin,

das als Leitsubstanz von nichtpflanzlichen Organismen angesehen wird, kann als entsprechendes Indiz gewertet werden.

Vorgelegt werden Ergebnisse, die mittels zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie und Gaschromatographie - Massenspektrometrie bei der Analyse von Gefäßinhalten erhalten wurden.

34

### Analyse von tricyclischen Antidepressiva mit Festphasenextraktion und HPLC

Jörg Schüle<sup>1</sup>, Bernd Schoppek<sup>2</sup>, Elisabeth Korte<sup>1</sup>:<sup>1</sup> Varian GmbH, Alsfelder Str. 6, 64289 Darmstadt; <sup>2</sup> Bezirkskrankenhaus Haar, Apotheke, 85540 Haar

Es wird eine schnelle und sichere Methode für die Quantifizierung von tricyclischen Antidepressiva (TCA) in klinischen Proben vorgestellt. Da in Patientenproben viele Substanzen, wie Benzodiazepine, Barbiturate etc., enthalten sein können, die die Detektion der TCA stören, ist es notwendig einen Cleanup-Schritt durchzuführen. Dieser erfolgt mit Bond Elut TCA-Festphasenkartuschen von Varian, die für die wichtigsten TCA, Desipramin, Amitriptylin, Doxepin, Nortryptilin und Imipramin, Wiederfindungsraten über 90% und Reproduzierbarkeiten von < 5% ergeben. Die anschließende HPLC-Analyse mit einer Res Elut TCA-Säule erfolgt mittels UV-Detektion bei 242 nm und ist über einen weiten linearen Bereich von <20 bis 2000 ng/mL anwendbar.

## Evaluation of the First REMEDi Collaborative Study

---

Serge Schneider and Robert Wennig

---

*Laboratoire National de Santé, Division de Toxicologie, Centre Universitaire de Luxembourg, 162A, avenue de la Faiencerie, L - 1511 Luxembourg*

### INTRODUCTION

At the beginning of the nineties BIO-RAD introduced a new, fully automated HPLC system for detection, identification and semi-quantification of drugs, drugs of abuse and their metabolites in urine, serum or gastric fluid samples (1 - 4). The REMEDi (**R**apid **E**mergency **D**rug identification) uses a combination of HPLC columns performing adsorption, concentration and separation of neutral, acidic and basic substances. Drug detection is achieved by a fast scanning multiwave UV detector. Identification of the unknowns is based on determination of relative retention times (RRT) compared to two internal standards, absorption maximum, wavelength ratios, second derivatives and a so-called « Similarity factor » (5).

In this paper we describe the results of a REMEDi collaborative study. To our knowledge it is the first of its kind. Seven laboratories took part in the study for identification and semi-quantification of drugs in a spiked urine specimen. The study is completed by an independent GC / MS analysis in a reference laboratory.

### 1. METHODS

Amitriptyline, nortriptyline, methamphetamine, amphetamine, morphine and monoacetylmorphine (MAM) at known concentrations were added to 70 ml of blank urine (pH : 7.7) (Table 1). Five milliliters of the urine were sent to the seven participating laboratories for analysis by the REMEDi system. The results are referred to as studies 1 to 7. Studies 1, 2, 3 and 7 were done with undiluted urine, the studies 4, 5 and 6 were performed using dilution factors of 1/1.4, 1/2 and 1/5 respectively.

**Table 1:** Concentration of drugs in the spiked urine sample.

	<b>Drug</b>	<b>Amount added</b>
<b>1</b>	<b>Amitriptyline</b>	530 ng/ml
<b>2</b>	<b>Nortriptyline</b>	2.000 ng/ml
<b>3</b>	<b>Amphetamine</b>	4350 ng/ml
<b>4</b>	<b>Methamphetamine</b>	3550 ng/ml
<b>5</b>	<b>Morphine</b>	1.000 ng/ml
<b>6</b>	<b>MAM</b>	5.000 ng/ml

### 2. RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 and figure 2 show the chromatograms recorded at 205 nm of two studies (study 1 = undiluted and study 6 = 1/5 diluted urine). Peaks 9 and 10 of study 6 are not resolved in study 1, they appear in the chromatogram as peak 12. This may be due to a better tuned instrument, preparation of the sample (centrifugation ?) or to the dilution of the sample.

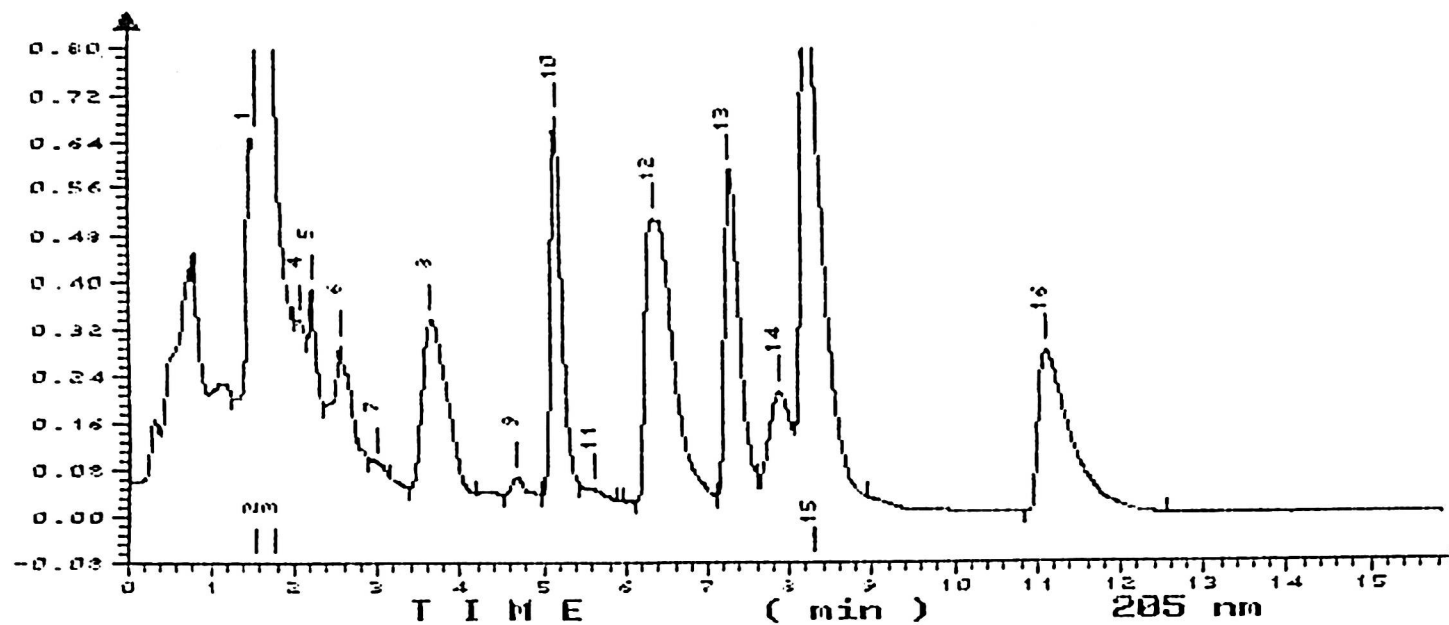


Figure 1 : Chromatogram of study 1 (undiluted sample).

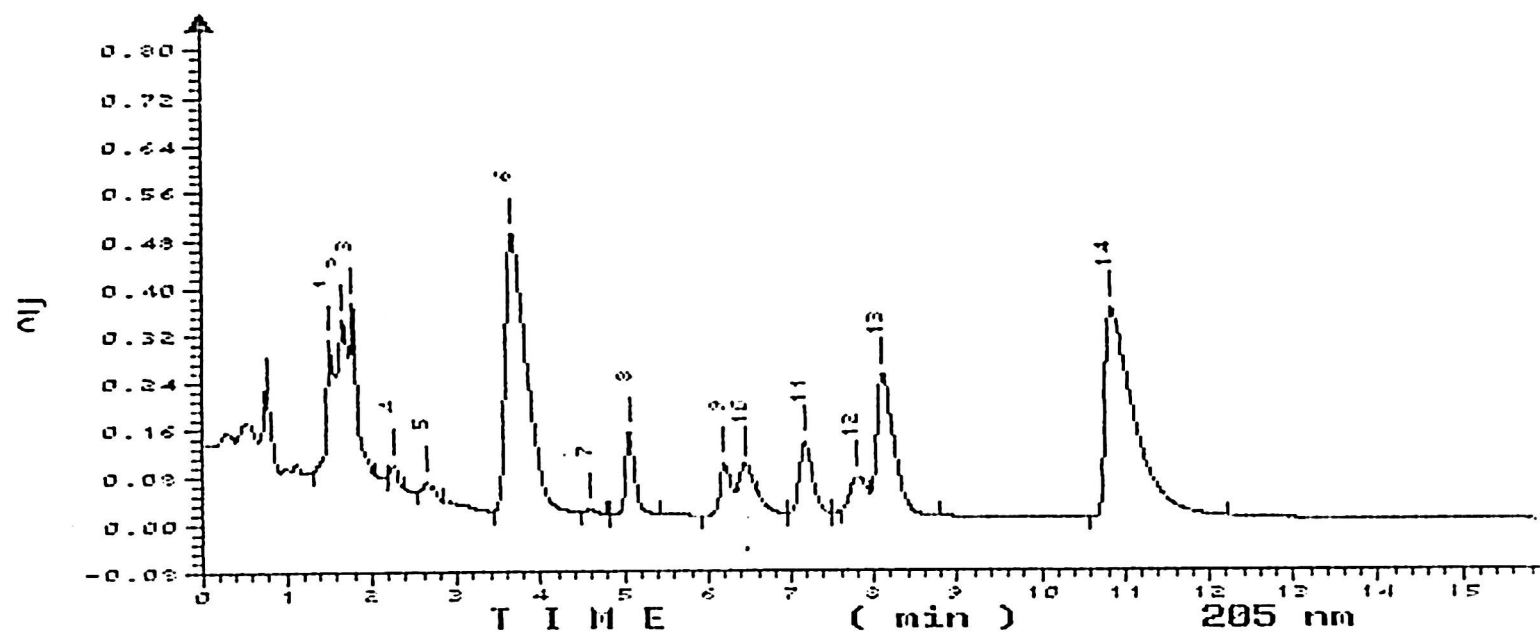


Figure 2 : Chromatogram of study 6 (1/5 diluted sample).

The qualitative and quantitative results of the seven REMEDI studies are summarized in table 2. Morphine, MAM, amitriptyline and amphetamine were identified in all studies. The study 6, done with 1/5 diluted urine, however, was the only one to detect and to match all the drugs. Because of similar retention times of methamphetamine (RT = +/- 6.2 min.) and nortriptyline (RT = +/- 6.5 min.) identification and quantification of these two compounds was not easily achieved. The two compounds were separated in study 6 (figure 2) but not in the other studies (example: figure 1).

Using undiluted urine, only study 3 detected nortriptyline; no study using undiluted urine detected methamphetamine. Those studies done with diluted urine always matched at least one of the two drugs. Nortriptyline in studies 4 and 5 was not matched by the REMEDI but proposed as a possible candidate. The SF (Similarity factor) in these cases was 0.170 (study 4) and 0.187 (study 5) respectively. This value is a factor 2 - 3 too high for further consideration and eventual matching. As no qualified candidates were proposed, identification is based on manual evaluation of the UV spectra.

**Table 2:** Results of the REMEDI analysis (concentration in ng/ml; nf = not found; na = drug matched but quantification not available; ovra = drug matched but quantification not available because of overrange).

Study No	1	2	3	4	5	6	7
<b>Dilution</b>	-	-	-	1/1.4	1/2	1/5	-
<b>Drug</b>							
<b>Amitriptyline</b>	539	591	806	657	406	1037	na
<b>Nortriptyline</b>	nf	nf	2337	1878	327	1897	nf
<b>Amphetamine</b>	2906	2726	2887	2341	3366	3083	5360
<b>Methamphetamine</b>	nf	nf	nf	2707	nf	3409	nf
<b>Morphine</b>	ovra	ovra	ovra	10068	11339	16380	9090
<b>MAM</b>	4738	4543	5583	3534	4708	5232	na

Determination of the mean concentration and of the standard deviation shows some discordance for the different drugs. Morphine and MAM gave results close to the actual concentration (117 and 95 % respectively). Coelution of methamphetamine and nortriptyline together with the matching of only one of them makes quantification difficult.

**Table 3:** Mean concentration percentage recovered and standard deviation of the studies 1 - 7.

Drug	Mean concentration. (ng/ml)	Percentage found recovered (%)	Standard deviation
<b>Amitriptyline</b>	672	126	203
<b>Nortriptyline</b>	1610	81	763
<b>Amphetamine</b>	3238	74	914
<b>Methamphetamine</b>	3058	86	351
<b>Morphine</b>	11719	117	2807
<b>MAM</b>	4739	95	638

Comparison of the relative retention times compared to internal standard 1 (N-ethyl Nordazepam, RRT 1) and internal standard 2 (Chlorpheniramine, RRT 2) confirms a good reproducibility of the results when comparing the different REMEDI instruments (table 4). The greatest variations being observed for morphine and monoacetylmorphine.

**Table 4:** Minimum and maximum relative retention times RRT 1 and RRT 2 of the different drugs compared to the 2 internal standards .

Drug		Min	Max	Mean
<b>Amitriptyline</b>	<b>RRT 1</b>	2.110	2.193	2.145
	<b>RRT 2</b>	0.694	0.719	0.704
<b>Nortriptyline</b>	<b>RRT 1</b>	1.737	1.835	1.764
	<b>RRT 2</b>	0.562	0.599	0.583
<b>Amphetamine</b>	<b>RRT 1</b>	1.386	1.425	1.406
	<b>RRT 2</b>	0.453	0.469	0.462
<b>Methamphetamine</b>	<b>RRT 1</b>	1.681	1.689	1.685
	<b>RRT 2</b>	0.572	0.572	0.572
<b>Morphine</b>	<b>RRT 1</b>	2.198	2.325	2.246
	<b>RRT 2</b>	0.720	0.748	0.738
<b>MAM</b>	<b>RRT 1</b>	1.943	2.045	1.983
	<b>RRT 2</b>	0.636	0.662	0.652



The GC/MS analysis by the independent reference laboratory confirmed the presence of all the drugs in the urine sample and also detected caffeine, theobromine and codeine and methanol. Caffeine and theobromine are present in urine after consumption of coffee and cocoa; codeine is a usual contaminant of heroin; methanol was used as solvent for the drugs for spiking the urine specimen.

### 3. CONCLUSION

The first REMEDI collaborative study shows the advantages and disadvantages of this HPLC system. Matching of all the major peaks of the chromatogram (detection of all the drugs) is not always easily achieved. Coelution of drugs resulted in no matching at all or matching of only one of the drugs present in the peak. A careful manual investigation of the results is always useful. False positive results however were never reported.

Reproducibility of the chromatograms is excellent. Separation of drugs with very similar retention times however needs careful preparation of the sample (dilution, centrifugation) and of course a well tuned instrument. Changing of the chromatographic settings (pressure, mobile phase, ...) in order to increase the separation of certain peaks is not possible with the REMEDI thus limiting its analytical flexibility.

Dilution of the sample generally allows quantification of the drugs present in the sample. As the quantification range of the REMEDI system is limited (detection limit versus overrange), several runs may be necessary in order to obtain quantitative results for all the drugs detected.

The REMEDI might reveal a very useful tool for fast sample screening in emergency situations. A more detailed analysis using GC/MS or other techniques however may be necessary in order to complete and confirm the REMEDI results.

**ACKNOWLEDGEMENTS.** We would like to thank all the participating laboratories of this collaborative study: Dr. A. Alt (Abteilung Rechtsmedizin, Universität Ulm), Dr. Dr. G. Friedrich (Institut für Rechtsmedizin, Universität Freiburg im Breisgau), Prof. Dr. G. Kauert and K. Schmidt (Zentrum der Rechtsmedizin, J.-W. Goethe Universität, Frankfurt/Main), Dr. R. D. Maier (Institut für Rechtsmedizin, RWTH Aachen), Prof. Dr. H. Maurer (Abteilung für Klinische Toxikologie, Universität des Saarlandes, Homburg / Saar), Prof. Dr. L. von Meyer (Institut für Rechtsmedizin, Universität München), Dr. F. Musshoff (Institut für Rechtsmedizin, Heinrich Heine Universität, Düsseldorf), Dr. J. Neumann (Institut Polizeitechnische Untersuchungen, Landeskriminalamt Berlin).

### REFERENCES

- (1) Adams, A. K., Essien, H., Binder, S. R.: *Ann. Biol. Clin.* (1991), 49, 291-297
- (2) Vincent, F., Chartier, A., Eysseric, H., Marka, C., Danel, V., Bessard, G.: *Toxicorama*, (1994), 6, 7 - 18.
- (3) Demedts, P., Wauters, A., Franck, F., Neels, H.: *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* (1994), 32, 409 - 417.
- (4) Ohtsuji, M., Lai, J. S., Binder, S. R., Kondo, T., Takayasu, T., Ohshima, T. *J. Forensic Sci.*, (1996), 41, 881-886.
- (5) Binder, S.R., Regalia, M., Biaggi-McEachern, Mazhar, M., *J. Chromatogr.* (1989), 473, 325-341.

## Methodische Aspekte der Standardisierung bei der Opiat-Analytik mittels LC-APCI-MS

---

Maciej J. Bogusz und Sarah Drießen

---

*Institut für Rechtsmedizin der RWTH Aachen, Klinikum, 52057 Aachen*

### Einleitung:

Kommerziell erhältliche Standards finden in der Methodvalidierung der forensischen Toxikologie breite Verwendung. Zahlreiche Firmen bieten eine Palette von Serum- bzw. Urinproben an, die mit bekannten Mengen bestimmter Stoffe versetzt sind. Bei der Entwicklung und Validierung der Bestimmungsmethode von Opiaten und deren Glucuroniden mittels LC-APCI-MS (liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry) haben wir Kontrollserum und -urin von f-a Medichem (D-70565 Stuttgart) verwendet. Währenddessen sind wir auf ein unerwartetes und interessantes Phänomen gestoßen, das uns zu diesem Kurzbericht veranlaßt hat.

### Experimentelle Untersuchungen

#### Material:

Folgende Proben wurden untersucht:

1. Kontrollserum "Medidrug Opiate Level 1" (enthält laut Beipackzettel 0.05 mg/l Morphin · 3 H<sub>2</sub>O und je 0.1 mg/l Morphin-3-Glucuronid, Morphin-6-Glucuronid · 2 H<sub>2</sub>O, Codein · H<sub>2</sub>O und Codein-6-Glucuronid · ½ H<sub>2</sub>O),
2. Serum aus der Blutbank mit dem Zusatz von 0.05 mg/l Morphin und je 0.1 mg/l Morphin-3-Glucuronid, Morphin-6-Glucuronid, Codein und Codein-6-Glucuronid (bezogen auf die Basenform),
3. Kontrollurin "Medidrug Opiate U Level 2" (enthält 0.5 mg/l Morphin, 1.5 mg/l Morphin-3-Glucuronid, 1 mg/l Codein und 10 mg/l Codein-6-Glucuronid, bezogen auf die Basenform),
4. Leerurin mit dem Zusatz von 0.5 mg/l Morphin, 1.5 mg/l Morphin-3-Glucuronid, 1 mg/l Codein und 10 mg/l Codein-6-Glucuronid, bezogen auf die Basenform,
5. Urinprobe, gesammelt bis 6 Stunden nach der Einnahme von 2 Kaps. Codipront (60 mg Codeinphosphat)
6. Urinprobe, gesammelt 6-12 Stunden nach der Einnahme von 2 Kaps. Codipront (60 mg Codeinphosphat)

#### Methoden:

##### *Probenvorbereitung:*

1 ml Probe wurde mit 2 ml Ammoniumcarbonat-Puffer (pH 9.3, 0.01 M) und einer Internal Standard Mischung (Morphin-d<sub>3</sub>, M3G-d<sub>3</sub>, M6G-d<sub>3</sub>, Codein-d<sub>6</sub> und C6G-d<sub>3</sub>, à

100 ng) versetzt, vortexiert und abzentrifugiert. 2 ml Überstand wurden auf die SPE-C18-Kartusche gegeben und langsam durchgezogen. Die Kartusche wurde mit 2 ml Ammoniumcarbonat-Puffer (pH 9.3, 0.01 M) gespült und nach 5 min Vacuumtrocknung mit 0.5 ml MeOH - 0.5 N Essigsäure (9:1) eluiert. Der unter N<sub>2</sub> eingeeengte Extrakt wurde in 100 µl mobile Phase aufgenommen und abzentrifugiert. 20 µl wurden ins LC-APCI-MS eingespritzt.

#### **LC-APCI-MS:**

Mobile Phase: Acetonitril-Ammoniumformiatpuffer 50 mM, pH 3.0 (5:95). Flußrate-Gradient: 4 min bei 0.6 ml/min, in 3 min bis 1.1 ml/min, 5 min bei 1.1 ml/min. Säule: Superspher RP-C18, 125 x 3 mm.

APCI-MS: SSQ 7000 von Finnigan MAT, positive Ionisierung, Octapol Offset 10 V. Folgende Ionen wurden registriert:

m/z 286 (für Morphin, M3G-Aglycon, M6G-Aglycon), m/z 289 (für Morphin-d<sub>3</sub>, M3G-Aglycon-d<sub>3</sub>, M6G-Aglycon-d<sub>3</sub>), m/z 462 (für M3G und M6G), m/z 300 (für Codein und C6G-Aglycon), m/z 303 (für C6G-d<sub>3</sub>), m/z 306 (für Codein-d<sub>6</sub>), m/z 476 (für C6G).

#### **Ergebnisse:**

Abb.1 zeigt die LC-MS-Chromatogramme des Extraktes aus dem Kontrollserum "Medidrug Opiate Level 1". Die Ergebnisse der Untersuchungen von Morphin, M6G und C6G stimmten mit denen der Probe 2 (Abb.2), die im Labor vorbereitet wurde, überein. Die Konzentration des M3G war jedoch deutlich niedriger. Darüber hinaus zeigte der Extrakt des Medidrug-Serum Matrix-Peaks, die im Serum der Blutbank nicht zu sehen waren. Sehr interessant war das Ergebnis der Codein-Untersuchung im Medidrug-Serum: der Peak von Codein (m/z 300 für M+H<sup>+</sup>, Rt 9:16) war relativ gering, gleichzeitig wurde ein Peak bei m/z 286 registriert. Dies kann bedeuten, daß Codein - nach der chromatographischen Trennung - im Octapol-Bereich zu Morphin fragmentiert wurde. Im Extrakt aus Probe 2 wurde für Codein lediglich ein Peak bei m/z 300 festgestellt. Diese Beobachtung beweist, daß die Fragmentierung im LC-APCI-MS probenabhängig sein kann. Vermutlich existiert im Medidrug-Serum ein Zusatz, der eine Fragmentierung von Codein zu Morphin erleichtert.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Urinextrakte (Kontrollurin "Medidrug Opiate U Level 2" und Leerurin mit Zusatz) unterschieden sich bezüglich der Codein-Fragmentierung nicht (Abb.3 und 4). Es wurden jedoch im Medidrug-Urin große Matrix-Peaks festgestellt, die die Quantifizierung von M6G erschweren können. Bei der Untersuchung der Urinprobe nach der Codein-Einnahme (Abb.5) wurde erwartungsgemäß eine hohe Konzentration von C6G (18.1 mg/l), eine geringere von Codein (5 mg/l), ziemlich hohe Konzentrationen von M3G (1.6 mg/l) und M6G (0.9 mg/l) und eine niedrige Morphinkonzentration (0.05 mg/l) festgestellt. Auch in dieser Probe wurde keine Fragmentierung des Codeins zu Morphin beobachtet. Die Untersuchung der zweiten Urinprobe nach der Codein-Einnahme zeigte qualitativ ähnliche Ergebnisse.

Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, daß die Fragmentierung der Substanzen während der sog. "collision induced dissociation" in der LC-APCI-MS-Analyse probenabhängig sein kann. Es ist deshalb empfehlenswert, die Bezugsstandards sehr kritisch zu untersuchen und die Art der Fragmentierung mit den authentischen Proben zu vergleichen.

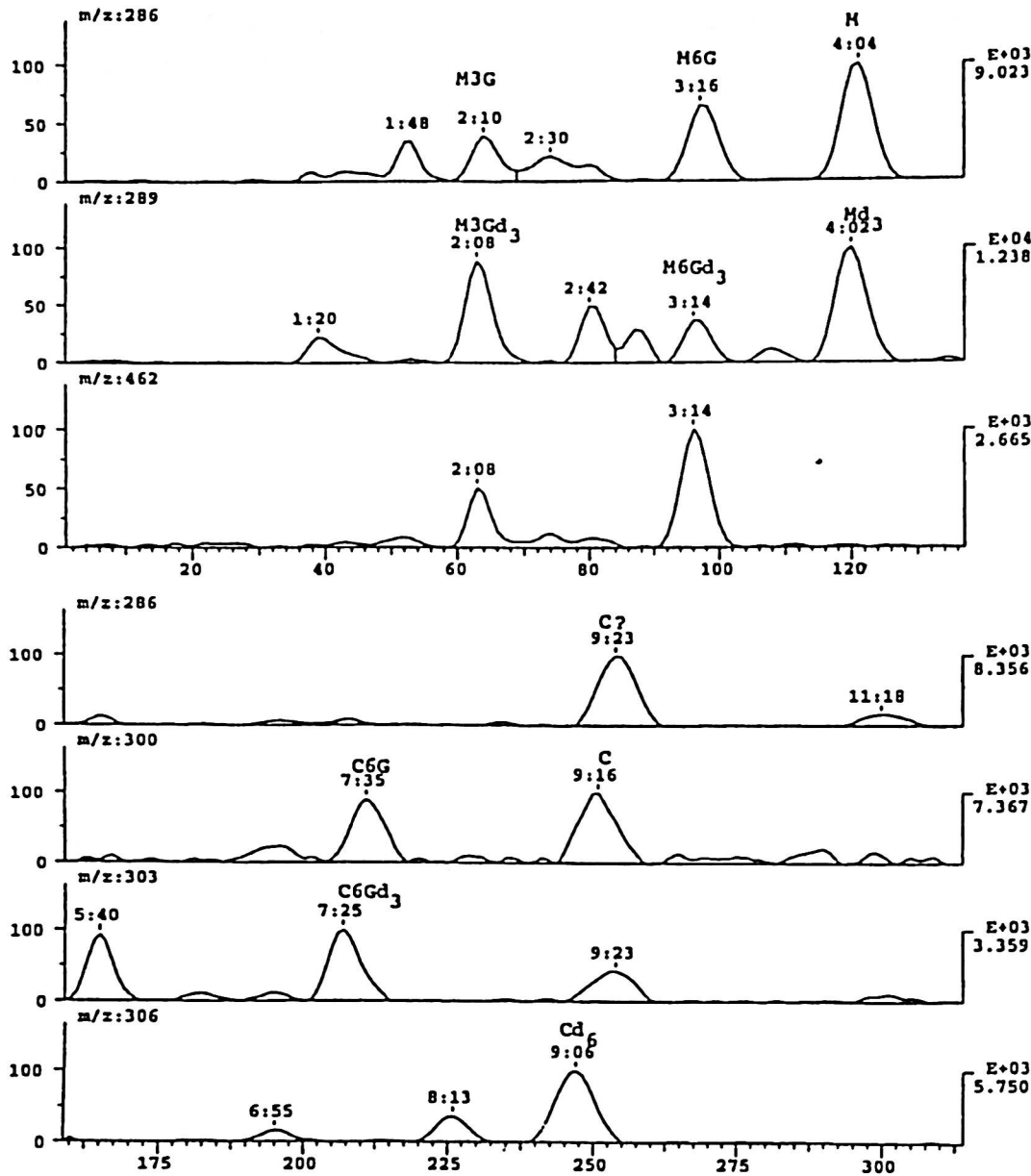


Abb. 1: SIM-Chromatogramm (getrennte Spuren) von einem Extrakt aus dem Kontrollserum "Medidrug Opiate Level 1". Abkürzungen: M3G = Morphin-3-Glucuronid, M6G = Morphin-6-Glucuronid, M = Morphin, M3Gd<sub>3</sub> = Morphin-3-Glucuronid-d<sub>3</sub>, M6Gd<sub>3</sub> = Morphin-6-Glucuronid-d<sub>3</sub>, Md<sub>3</sub> = Morphin-d<sub>3</sub>, C6G = Codein-6-Glucuronid, C6Gd<sub>3</sub> = Codein-6-Glucuronid-d<sub>3</sub>, C = Codein, Cd<sub>6</sub> = Codein-d<sub>6</sub>.

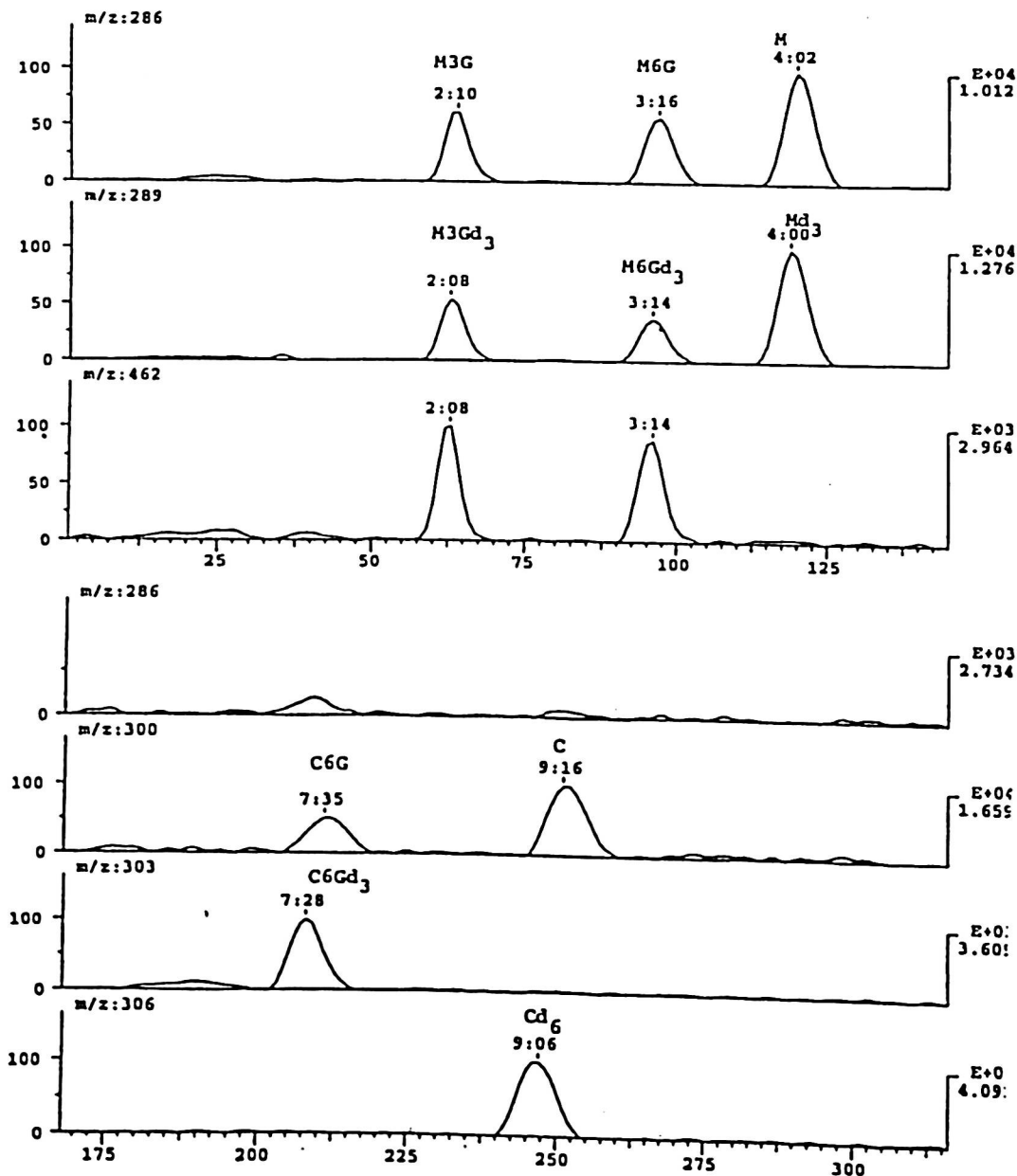


Abb. 2: SIM-Chromatogramm (getrennte Spuren) von einem Extrakt aus Blutbankserum, gespikt mit Opiaten in gleichen Konzentrationen wie im "Medidrug"-Serum. Abkürzungen wie in Abb. 1.

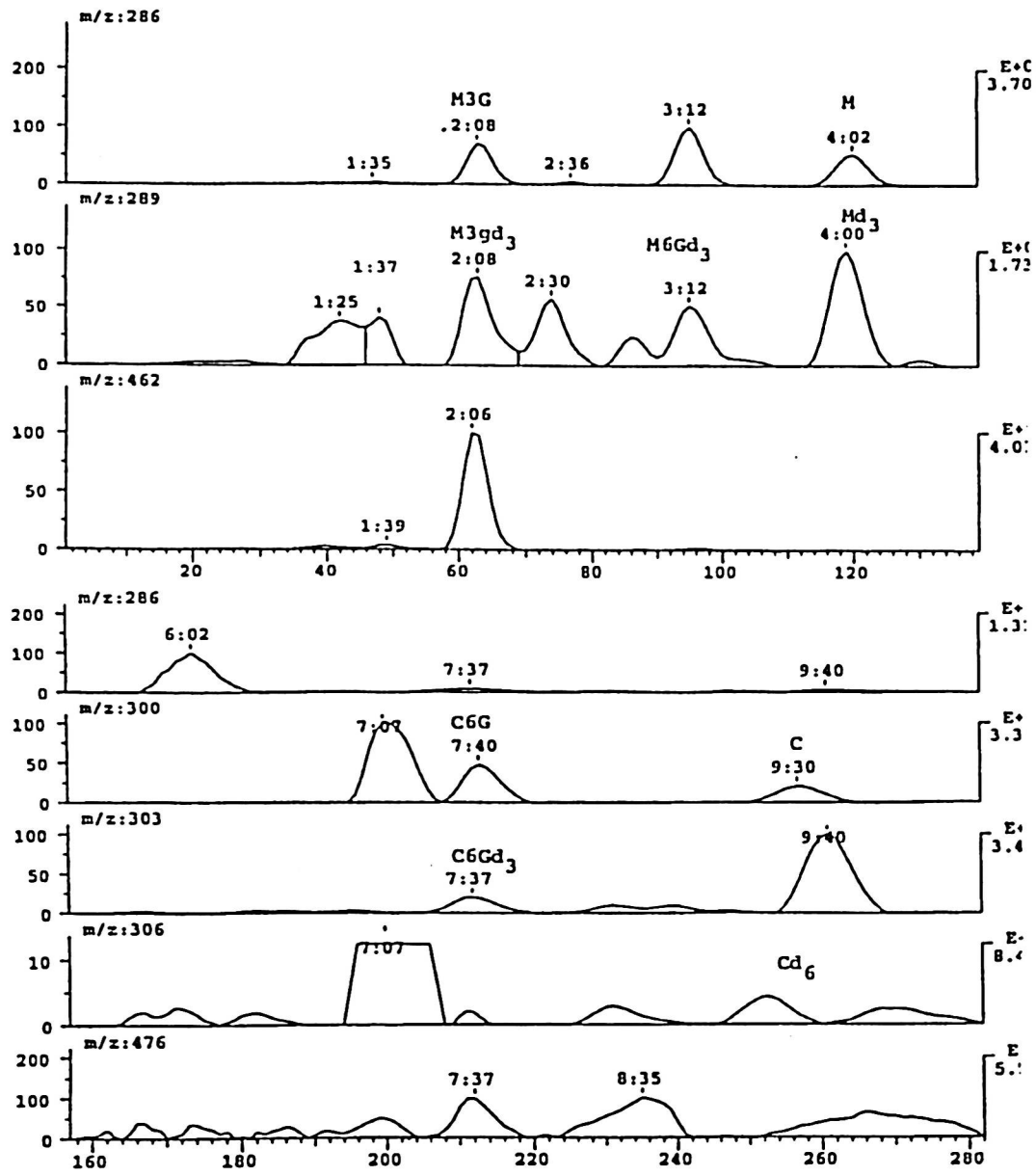


Abb. 3: SIM-Chromatogramm (getrennte Spuren) von einem Extrakt aus dem Kontrollurin "Medidrug Opiate U Level 2". Abkürzungen wie in Abbildung 1.

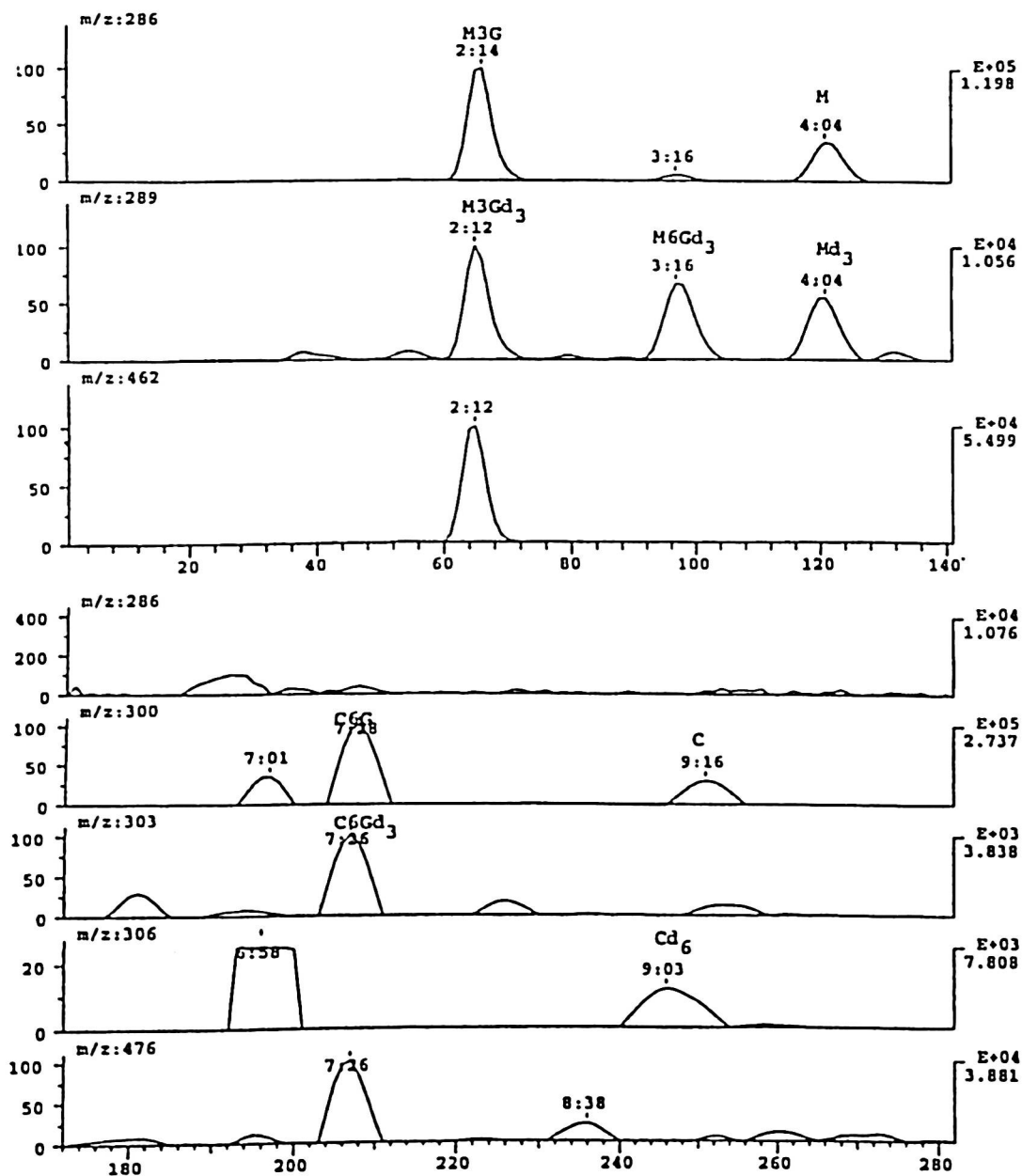


Abb. 4: SIM-Chromatogramm (getrennte Spuren) von einem Extrakt aus Leerurin, gespikelt mit Opiaten in gleichen Konzentrationen wie im "Medidrug" Urin. Abkürzungen wie bei Abbildung 1.

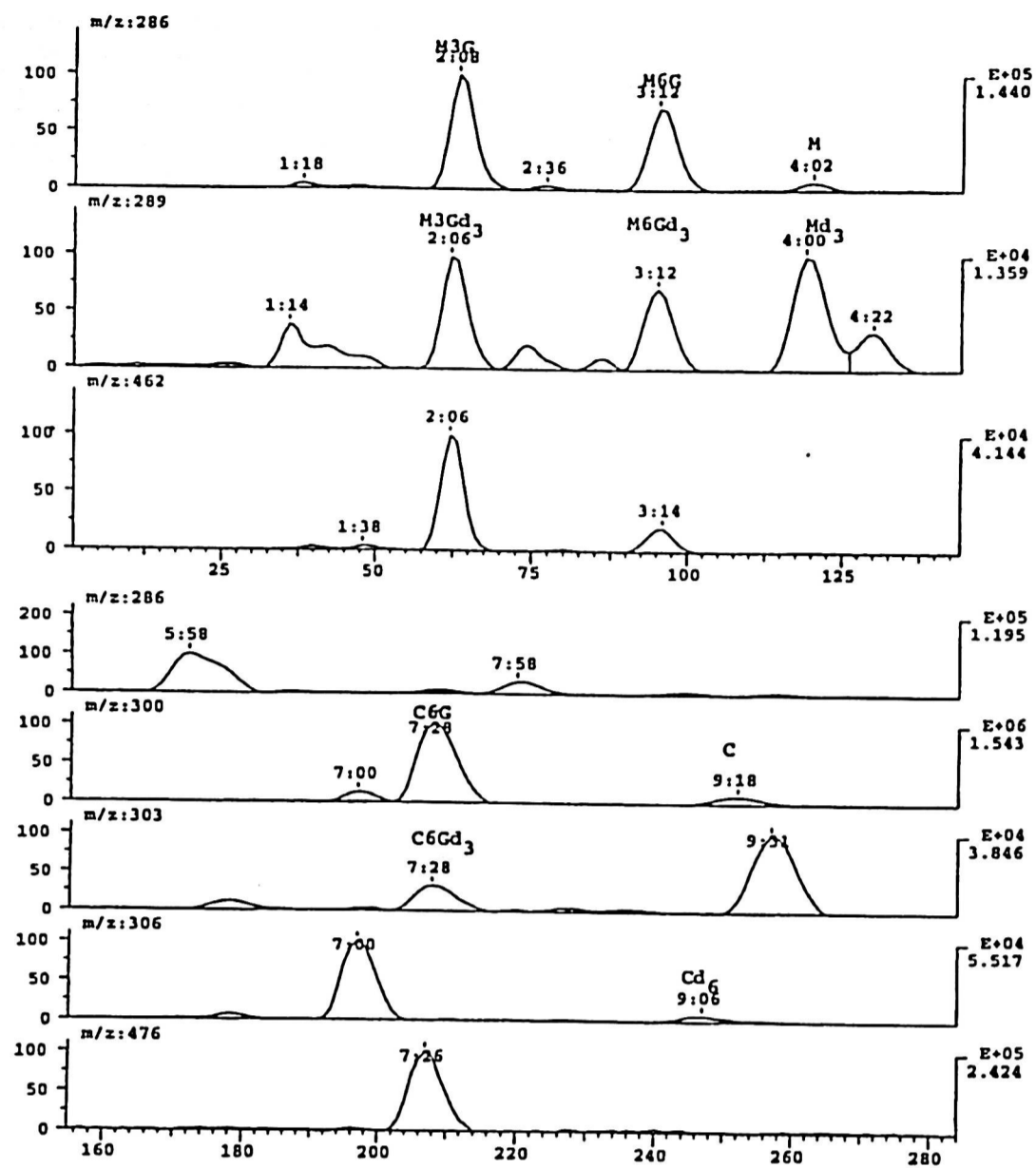


Abb. 5: SIM-Chromatogramm (getrennte Spuren) von einem Ex-trakt aus Urin, gesammelt 0-6 Std.nach der Einnahme von 60 mg Codein. Abkürzungen wie bei Ab-bildung 1.

# Der Nachweis von Amitriptylin bei einer Intoxikation durch tricyclische Antidepressiva (TCA)

---

Martin Erdweg

---

*Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin des Klinikums Krefeld, Lutherplatz 40, 47805 Krefeld*

**Schlüsselworte:** FPIA-Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay; HPLC-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie; TCA-tricyclische Antidepressiva

## Zusammenfassung

Amitriptylin wurde im Serum einer Patientin mittels Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay (FPIA) und Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) nachgewiesen. Bereits während des HPLC-Analysenlaufs wurden von allen angezeigten Substanzpeaks die zugehörigen UV-Spektren aufgenommen. Dadurch war die eindeutige Identifizierung der gesuchten Substanzen möglich. Mit der Kombination dieser beiden Untersuchungsverfahren läßt sich eine Vielzahl von Medikamenten wie auch Drogen im Serum und Harn nachgeweisen.

## Einführung

Die meisten Medikamente, die zur Behandlung psychischer Erkrankungen eingesetzt werden, können bei Überdosierung toxische Nebenwirkungen verursachen. Das trifft auch für die tricyclischen Antidepressiva (TCA) zu, die wegen der bei derartigen Erkrankungen häufig vorhandenen Suizidgefahr eingesetzt werden müssen. Daraus resultiert aber das Risiko einer akzidentellen Überdosierung.

Da die TCA eine signifikante individualspezifische Dosis - Wirkungsbeziehung aufweisen, ist es erstrebenswert die optimale Dosis für jeden behandlungsbedürftigen Patienten zu ermitteln und zu kontrollieren. (1,2,3)

## Probenmaterial

Die Abnahme des Blutes erfolgt unter Verwendung von Monovetten mit 5 cm<sup>3</sup> Volumen, gefolgt von der Serumgewinnung durch Zentrifugation bei ca. 1000g. Der Zusatz gerinnungshemmender Substanzen ist dabei nicht erforderlich.

## Geräte / Methoden

FPIA (Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay)

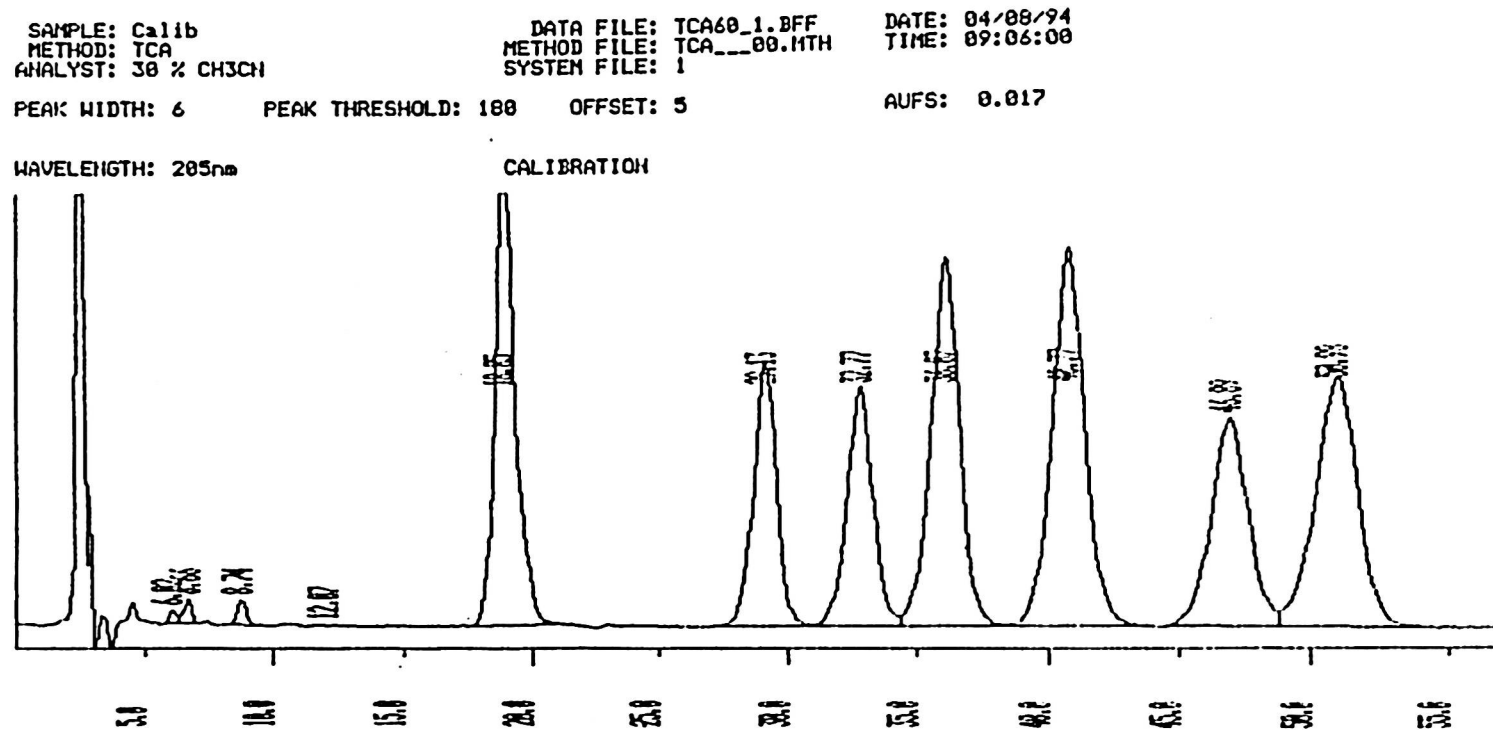
Der Gruppentest auf tricyclische Antidepressiva wurde mit der FPIA - Methode auf dem ADx Gerätesystem der Firma Abbott durchgeführt. Diese Methode erlaubte die direkte Messung der TCA ohne Aufbereitung der Probe durch vorgeschaltete Trennverfahren wie flüssig-flüssig Extraktion oder Festphasenextraktion und lieferte ein semiquantitatives Ergebnis.

HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)

Für die HPLC-Analyse wurde ein Aliquot des gewonnenen Serums einer flüssig-flüssig Extraktion unterworfen.

Die Trennung der aufgearbeiteten Serumprobe in die einzelnen Komponenten erfolgte mittels "Reversed Phase" Chromatographie unter Einsatz eines quartären Pumpensystems, das in isokratischer Verfahrensweise betrieben wurde. Die Detektion der einzelnen Substanzpeaks gelang durch die kontinuierliche Aufnahme von UV-Spektren über einen Wellenbereich von 200 - 320 nm.(5)

Die chromatographischen Bedingungen wurden so abgestimmt, daß sich in einem Analysenlauf gleichzeitig sieben TCA (1.Doxepin 2.Desipramin 3.Imipramin 4.Nortriptylin 5.Amitriptylin 6.Trimipramin 7.Amitriptylinoxid) trennen ließen.



**Abb.1:** Hochleistungsflüssigkeitschromatographische Trennung von 7 tricyclischen Antidepressiva. Analytische Bedingungen: Säulenlänge: 250 x 4,0 mm I.D. ; Säulenmaterial: Nucleosil RP-18; mobile Phase: 0,05 m  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 2,3) /  $\text{CH}_3\text{CN}$  : 70 % / 30 % (v / v) ; Flußrate: 1,0 ml / min ; Flußrate: 1ml / min; Detektion: UV bei 205 nm Wellenlänge.

### Kasuistik :

Eine 44 Jahre alte Patientin wurde in komatösem Zustand aufgefunden. Klinische Befunde, wie Atmung und Pulsfrequenz, sowie eine leere Medikamentenschachtel ließen eine Überdosierung mit TCA vermuten. Die sofort durchgeführte Serumuntersuchung auf TCA mittels FPIA war mit einer Gesamtkonzentration von  $1,65 \mu\text{g} / \text{ml}$  eindeutig positiv, während die Untersuchung auf Blutalkohol ein negatives Ergebnis lieferte. Das gleiche galt für die Suche nach anderen Wirksubstanzen. Die anschließend mittels HPLC durchgeführte Analyse ergab eine Amitriptylinkonzentration von  $0,4 \mu\text{g} / \text{ml}$  Serum. Im gleichen Analysenlauf wurden noch  $0,21 \mu\text{g} / \text{ml}$  Nortriptylin, ein stoffwechselaktiver Metabolit des Amitriptylins, festgestellt. Somit konnte das positive, semiquantitative Ergebnis der FPIA - Analyse mittels HPLC und UV-Spektrenanalyse bestätigt werden.

Weitere Medikamente und toxikologisch relevante Substanzen konnten weder mit FPIA noch mit der HPLC nachgewiesen werden, so daß der Zustand der Patientin mit größter Wahrscheinlichkeit auf die Überdosierung des Antidepressivums zurückzuführen war.



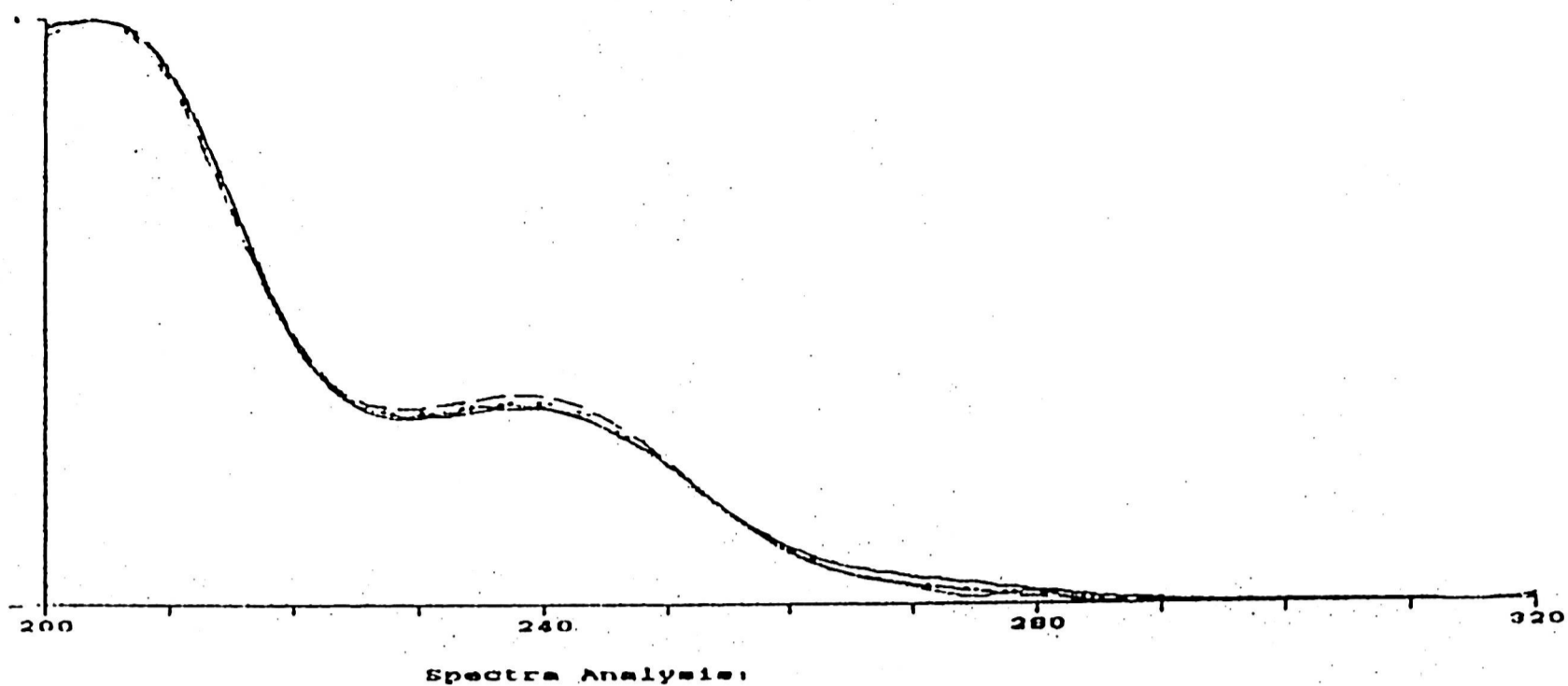


Abb.2: Überlagerung der UV-Absorptionsspektren ( 200 bis 320 nm ) von Nortriptylin und Amitriptylin aus Testlauf und Probe

### Diskussion

Schon bei Serumspiegeln von 50 - 100 ng / ml TCA wurden bei manchen Patienten kardiale Nebenwirkungen beobachtet. Stark toxische Effekte fanden sich bei Konzentrationen über 500 ng / ml, ab 1000 ng / ml besteht unmittelbare Lebensgefahr, wobei der Tod auch erst nach einigen Tagen überraschend eintreten kann. Daher ist eine kontinuierlich Kontrolle der therapeutischen Serumspiegel erforderlich (4). Für den Nachweis einer TCA-Intoxikation ist die semiquantitative Bestimmung mittels Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay (FPIA) geeignet, da mit dieser Methode die meisten Substanzen dieser Gruppe und die jeweils korrespondierenden Metaboliten, die ebenfalls noch wirksam sein können, in der gebotenen Schnelligkeit und Präzision nachweisbar sind. Die Empfindlichkeit der FPIA-Methode für die verschiedenen Wirkstoffe dieser Gruppe weist deutliche Unterschiede auf und bedarf daher der analytischen Ergänzung durch die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), die unter optimierten analytischen Bedingungen die qualitative und quantitative Bestimmung der gesuchten Wirksubstanzen in einem einzigen Analysengang erlaubt.

Die parallel durchgeführten Untersuchungen einer Serumprobe mittels FPIA und HPLC erbrachten auch in diesem Fall den raschen und sicheren Nachweis einer Medikamentenintoxikation durch ein Präparat, das die Wirksubstanz Amitriptylin enthielt.

Die Kombination der beiden voneinander unabhängigen Analyseverfahren FPIA und HPLC hat sich auch bei der Aufklärung von Intoxikationen hervorgerufen durch die Überdosierung anderer tricyclischer Antidepressiva bewährt.

### Literatur

1. Harry J.; Volans G., British Medical Journal Vol. 289, 1291 (1984).
2. Glassmann A.H.; Carino J.S.; Roose S.P., Frontiers in Biochemical and Pharmacol. Research in Depression, ed. Usdin, E., Raven Press, N.Y. 1984; 391-8.
3. Spiker D.G.; Weis A.N.; Chang S.S.; Ruwich J.F.; Biggs J.T., Clin.Pharmacol.Ther.18:538-46 (1975).
4. Prekorn S.H.; Irvin H.A., J.Clin.Psychiatry 43:151-6 (1982).
5. Erdweg M. et al., Medizinische Welt 39:1082-6 (1988).

## Kulturgeschichtliches zum Cocain

Rolf Giebelmann

Institut für Rechtsmedizin im Klinikum der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Kuhstraße 30, 17489 Greifswald

"Jede sprossende Pflanze,  
Die mit Düften sich füllt,  
Trägt im Kelche das ganze  
Weltgeheimnis verhüllt."

Emanuel Geibel (1815-1884)

Die Sage der Ureinwohner Perus über die Herkunft der Erythroxyton coca gibt der Chemiker Ernst Freiherr von Bibra (1806-1878) in seiner Abhandlung "Die Narkotischen Genußmittel und der Mensch" 1855 wie folgt wieder:

"Manko Kapak, der göttliche Sohn der Sonne, war vor uralten Zeiten herabgestiegen von den Felsenmauern des Titikaka=Sees, und hatte das Licht seiner Mutter ausgegossen über die armen Bewohner des Landes. Er hatte ihnen die Kenntniß gebracht von den Göttern ... und den Ackerbau verbreitet. Zugleich hatte er sie mit der Coca beschenkt, mit dem göttlichen Kraute, welches den Hungrigen sättigt, dem Müden und Erschöpften neue Kräfte verleiht und dem Unglücklichen seinen Kummer vergessen macht."



Abb. 1: Karikatur "Wiederaufbau mit Kokain" (1922) von Karl Arnold

Wegen des Gebrauches bei religiösen Riten wurde der Anbau der Coca von den Spaniern durch ein königliches Manifest aus dem Jahre 1569 als heidnisch untersagt. Die Nützlichkeit der Coca bei der Ausbeutung der indianischen Feldarbeiter führte jedoch zu einem Sinneswandel der spanischen Großgrundbesitzer.

Cocain wurde als Hauptalkaloid von Albert Niemann (1834-1861) 1860 aus Cocablättern isoliert. Sein Lehrer Friedrich Wöhler (1800-1882) schrieb im gleichen Jahr über das Cocain:

"Es schmeckt bitterlich, übt auf die Zungennerven eine eigenartige Wirkung aus, so daß die Berührungsstelle vorübergehend wie betäubt, fast gefühllos wird."

Aber erst 1884 setzte Carl Koller (1857-1944) auf Anregung von Sigmund Freud (1856-1939) Cocain als Lokalanästhetikum in der Augenheilkunde ein. Bereits 1885 wurde als Kehrseite der Medaille der erste Cocainmißbrauch beobachtet. Später "koksten" Ärzte und Künstler in geselliger Runde. Ein Beispiel beschreibt die Schauspielerin Elisabeth Bergner (1897-1986) in ihren Erinnerungen:

Ich blieb gewöhnlich allein in meiner Garderobe, wie ich das vom Theater her gewöhnt war. Aber einmal kamen Emil und Conny in der Mittagspause zu mir, brachten sich Kaffee mit und schlossen meine Garderobe ab. Ich fragte belustigt, was das wohl zu bedeuten hätte.

Conny begann: 'Du dummes Tier, wir wollen dich aufklären.' 'Weiß ich doch längst, woher die Kinder kommen und alles das.'

'Mach keine Witze und schau zu!' - Und jetzt holten sie ganz kleine Papiersäckchen hervor und staubten den Inhalt in die äußere Daumenvertiefung. Dann sagten sie: 'Jetzt schau zu, wie wir das aufschnupfen, und mach es nach!'

Ich wußte natürlich, daß es sich um Kokain handelte, denn 'Koksen' war jetzt die große Mode in Künstlerkreisen. Und es interessierte mich überhaupt nicht. So wenig wie trinken und alles das.

Aber bis man das verlässlich über sich selbst lernt, das dauert.

Aber hier diese beiden großen Kinder waren irrsinnig komisch, weil sie es sich zum Sport gemacht hatten, mich zu verführen."

Bei Gottfried Benn (1886-1956) ist zu lesen:

"O, Nacht! Ich nahm schon Kokain,  
Und Blutverteilung ist im Gange.  
Das Haar wird grau, die Jahre fliehn.  
Ich muß, ich muß im Überschwange  
Noch einmal vorm Vergängnis blühn."

Dagegen lautete der Refrain eines Liedes von Cole Porter (1891-1964):

"I get no kick from cocaine."

Mit diesem Text bekam Marlene Dietrich (1901-1992) Probleme:

"Das Lied von Cole Porter: 'I get a kick out of you' war dem Produzenten Wochen vorher vorgelegt worden und war offiziell genehmigt, wie wir dachten.

Doch so war es nicht. Im zweiten Refrain hieß es: 'I get no kick from cocaine'. Ich weiß nicht, in welchem Jahr Cole Porter dieses Lied geschrieben hat, aber ich weiß, daß es von allen großen prominenten Sängern gesungen wurde, und zwar so, wie er es geschrieben hatte. Ich mußte an G. B. Shaw denken, der zu sagen pflegte: 'Wenn schon Änderungen nötig sind, dann werde ich sie machen.' Aber Cole Porter war ja schon tot, als ich vor der Entscheidung stand. Das Wort Kokain durfte jedenfalls nicht bleiben.

Gemäß meinem Motto 'Nur keinen Ärger', versuchte ich andere Worte zu finden, die einen ähnlichen Sinn hatten und ins Versmaß paßten, aber leider bin ich nun einmal kein Dichter. Deshalb rief ich in Montreux an. Noel sagte nur: 'Ich rufe zurück.' Ich wartete, erklär-

te den mächtigen Herren, daß ich neue Worte bekommen würde, um die alten zu ersetzen, woraufhin man mir erwiderte: eine solche Änderung müßten die Erben 'genehmigen'.

Nach zwanzig Minuten rief Noel Coward zurück. 'They say that smoking's insane.' Er fand den Reim und das Versmaß. Kein Problem für ihn."

Hanns Dieter Hüsck (geb. 1925) spottete über "Sogenannte Intellektuelle" und deren Meinung:

"Und spüren Sie bei Arnold Schönberg  
Nicht auch eine Spur Kokain,  
Sehn Sie, ich hab's ja immer gesagt,  
Man muß sich in das Problem hinunterknien."

Seit 1878 gab es Bestrebungen, Cocain für eine Entziehungstherapie Morphinsüchtiger einzusetzen mit dem Ergebnis, daß Betroffene vom Cocain oder sogar doppelt abhängig wurden. Ab 1912 ging vom Pariser Nachtleben eine weitere Cocainismuswelle aus, die auch in Deutschland bis zum Ende der Weltwirtschaftskrise anhielt. Johannes R. Becher (1891-1958) erinnert sich an das "Café Stefanie 1912":

"In München war's, im Café Stefanie,  
Als ich dir, Emmi, die Gedichte sagte,  
Die ich allein dir nur zu sagen wagte,  
Und häufig kam das Wort vor: >Irgendwie<.

Am Tisch daneben spielte Mühsam Schach.  
Und Frank saß einem Geldmann auf der Lauer.  
(Vielleicht saß der indes im Café Bauer?)  
Ein Denker hielt mit Kokain sich wach.

Franz Jung erschien mit seiner Tänzerin,  
Und Bing, der Zeichner, ließ das Billard fahren,  
Denn Däubler nahte sich mit Bauch und Bart ...

Ihr Freunde, die ihr gute Freunde wart,  
Ich schreib euch dies zum Angedenken hin  
An jene Zeit, als wir noch Kinder waren."

Der Berliner Toxikologe Louis Lewin (1850-1929) sah 1927 die Situation folgendermaßen:

"Das Kokain allein begann ziemlich bald als Genußmittel gebraucht zu werden. Mit kleinen Mengen fing man an und stieg und steigt bis zu ganz ungeheuerlichen, bis 1 und 4 g und angeblich sogar 8 g täglich. Es ist ein Irrtum, daß der Krieg dies bewirkt habe, er hat nur Kreisen an diese Leidenschaft sich anzuschließen geholfen, die früher an die Betätigung einer solchen nicht gedacht haben. Schon 1901 gab es in England kokainistische Männer und Frauen, Ärzte, Politiker und Schriftsteller. Jetzt freilich sehen diese Verhältnisse betrüblicher aus, ohne daß etwa deswegen der Morphinismus entthront ist. In Deutschland - hauptsächlich natürlich in den großen Städten - gibt es genußsüchtige Kokainverwender in vielen Berufsarten bis zu den Straßendirnen und Zuhältern herunter. In gewissen Likörstuben, Restaurants, auf der Straße usw. wird Kokain diskret zum Verkauf angeboten - meist als gestohlene oder ver-

fälschte Ware, für die Wucherpreise bis zu dreißig Mark gefordert und gezahlt werden. Es gibt Kokainhöhlen in Berlin, bessere oder schmutzstarrende Lokale, von denen erst im Beginn



Abb. 2: Radierung "Kokainrausch" (1924) von Magnus Zeller

dieses Jahres eines mit gegen hundert Gästen von der Polizei aufgehoben wurde, in denen Männer und Frauen aus allen Gesellschaftskreisen, auch Akademiker, Schauspieler usw., Stunden erfüllter Begierde als wesenslose Lebewesen dahindämmern, oft ohne tagelang irgendwelche Nahrung zu sich zu nehmen, weil das Kokain durch Lähmung der Magennerven ein Hungergefühl nicht aufkommen läßt. Sie geben, was sie besitzen, selbst notwendige Kleidungsstücke, hin, um das ersehnte narkotische Glück zu gewinnen. Die phantasievollste Schilderung der Nachtseiten des menschlichen Lebens, eine Hogartsche Zeichnung der 'Punschgesellschaft', und andere, die das Herabgesunkensein des Individuums auf ein Niveau, das noch unter dem des Tieres liegt, stellen, erreichen an Abstoßendem nicht die Höhe des Eindrucks, den eine solche Vereinigung

von Verkommenheit in den aktiven Stadien des Kokainismus darbietet."

"Ach, er möchte wie ein Quell versiechen,  
Jedem Hauch der Luft ein Gift entsaugen  
Und den Tod aus jeder Blume riechen.  
Wer die Schönheit angeschaut mit Augen,  
Ach, er möchte wie ein Quell versiechen!"

August von Platen (1796-1835)

## Literatur

- (1) von Bibra: Die Narkotischen Genußmittel und der Mensch,
- (2) Verlag von Wilhelm Schmid, Nürnberg 1855, S. 151
- (3) G.Megges: Massive psychische Abhängigkeit .... Kriminalistik 2/83, 62-69
- (4) H.M.Koelbing: Kokainsucht schon vor 100 Jahren,
- (5) Schweiz. Rundschau Med. (PRAXIS) 75, 1565-1568 (1986)
- (6) E.Bergner: Unordentliche Erinnerungen, Henschelverlag, Berlin 1987, S. 52
- (7) G.Benn: Gedichte (Hrsg.: J.Schreck), 2.Aufl., Verlag Volk und Wissen, Berlin 1989, S. 45
- (8) M.Dietrich: Nehmt nur mein Leben..., 2.Aufl., Henschelverlag, Berlin 1985
- (9) H.D.Hüsch: Sogenannte Intellektuelle, in: A.Voigtländer u. H.Witt (Hrsg.): Denkwort,
- (10) Verlag Philipp Reclam jun., Leipzig 1977, S. 304
- (11) J.R.Becher: Café Stefanie, in: U.Heise: Coffeana, Koehler & Amelang, Leipzig 1988, S. 104

## In Kürze: Aus den Sitzungen des Vorstandes

---

Gerhard Megges

---

*Bayerisches Landeskriminalamt, Maillingerstr. 15, D-80636 München*

Seit dem Mosbacher Symposium 1995 hat sich der Vorstand fünfmal zu Sitzungen getroffen.

Herr Pragst, der 1995 als 3. Beisitzer gewählt wurde, hat seine Arbeit aufgenommen. Er hat sich bereit erklärt, künftig die Redaktion von „TOXICHEM und KRIMTECH“ zu übernehmen.

Für den Berichtszeitraum sind weiterhin folgende Schwerpunkte und Entwicklungen bemerkenswert:

Am 14.07.96 wurden die überarbeiteten **Richtlinien für die Arbeitskreise der GTFCH** beschlossen. Sie sollen die Effizienz der Arbeitskreise und die Kommunikation mit dem Vorstand verbessern.

1995 war beschlossen worden, die Satzung unserer Gesellschaft zu aktualisieren. Dies ist durch eine Kommission unter Leitung von Herrn Fehn in enger Zusammenarbeit mit dem Vorstand geschehen. Z. T. in Anlehnung an die Satzungen anderer wissenschaftlicher Gesellschaften und in Kontakt mit dem zuständigen Finanzamt ist eine völlig neue Satzung entstanden, für die der Vorstand die Mitgliederversammlung um Zustimmung bittet.

1995 wurde auch die Einführung des **Fachtitels „Forensischer Chemiker, GTFCh“** beschlossen. Sinn dieser Maßnahme ist, auch den nicht toxikologisch tätigen Mitgliedern - insbesondere aus den Kriminalämtern - die Möglichkeit des Nachweises einer besonderen fachlichen Qualifikation zu eröffnen. Die erforderlichen Richtlinien für die Zuerkennung des Fachtitels wurden von einer ad hoc - Anerkennungskommission erarbeitet, mit dem Vorstand intensiv diskutiert und werden nun ebenfalls der Mitgliederversammlung zur Abstimmung vorgelegt. Es ist sehr erfreulich, daß sich die Kollegen, die hier mitgearbeitet haben, auch für die **erste Anerkennungskommission** zur Wahl stellen.

Ein Dauerthema ist die **Akkreditierung**. Hier wird die Gründung eines Sektorkomitees „Forensische Wissenschaften“ bei der DAP favorisiert. Diesem Projekt steht auch der AK „Kriminaltechnik der LVÄ und des BKA“ positiv gegenüber.

Noch nicht erledigt ist auch die **Grenzwert-Problematik** im Zusammenhang mit der geplanten Novellierung des § 24a StVG. Es handelt sich hierbei um eine politische Sache und die kann dauern.

Einen in diesem Umfang gar nicht erwarteten Erfolg erzielte unsere Gesellschaft mit dem **Symposium „Designer-Drogen - analytische und toxikologische Aspekte“** auf der Analytika '96 in München. Es herrschte enormes Interesse und auch die Sitzplätze auf dem Fußboden waren belegt.

Auch die **Weiterbildungsveranstaltung 1996 in Kirkel** erfreute sich lebhaften Zpruchs. Anknüpfend an die vorausgegangenen Veranstaltungen in Seelingstätt und in Krikel konnten wieder kompetente Referenten, diesmal zum Komplex „Herz, Kreislauf, Nieren“ gewonnen werden.

Gut besucht waren auch die **Workshops** 1995 bei Herrn Demme in Jena und 1996 bei Herrn Kauert in Frankfurt/M. Der Dank des Vorstands geht auch an diese Kollegen und alle ihre Helfer!

Last but not least stand auch die Vorbereitung des heurigen **X. Symposiums in Mosbach** seit einem Jahr auf der Tagesordnung der Sitzungen. Der Vorstand glaubt attraktive Themen und kompetente Referenten sowie einen würdigen Stas-Preisträger 1997 gefunden zu haben.

## **Bericht 1997 des Vorsitzenden des Arbeitskreises der GTFCH « Analytik der Suchstoffe »**

---

**Robert Wennig**

---

*Laboratoire National de Santé, Division de Toxicologie, Centre Universitaire de Luxembourg, 162A, avenue de la Faiëncerie, L - 1511 Luxembourg*

Seit dem letzten Bericht hat nur eine Sitzung stattgefunden, die man in folgenden Stichworten zusammenfassen kann.

### 52. Sitzung (Frankfurt/Main):

- Stobbe : Tabletten von 2-CB-HBr mit Herzlogo beschlagnahmt. (Wirkstoff 214-266 mg)
- Zerell : Poster mit Ecstasytabletten vom BKA werden künftig in den Zuständigkeitsbereich von Europol fallen.
- Schneider : Gemisch aus Kokain und Kaliumchlorat.
- Briellmann : Khat in Bern aufgetaucht.
- Fritschl : « Herbal Extasy » (auch in München).
- Alle : Straßenheroin zur Zeit mit 15 % im Durchschnitt.
- Briellmann : 350 ng/ml freies Morphin bei einem Verkehrsteilnehmer aus « Heroinprogramm »
- v.Meyer: LSD kann in Blut und Urin mit CEDIA gemessen werden
- Lemm-Ahlers : Bei 10 Proben war EMIT falsch positiv, CEDIA bei 3 und RIA bei keinem.
- Möller : Neuer Immunotest aus USA, mit gleichzeitigem Fingerabdruck.

Haar-Workshop in Strasbourg 18-20. Juni 1997 (P.Kintz).

## **Protokoll der Sitzung des Arbeitskreises "Extraktion" der GTFCh**

---

**Ulrich Demme**

---

*Institut für Rechtsmedizin, Klinikum der FSU Jena, Postfach, 07740 Jena*

(am 13.11.1996 in Frankfurt/Main, Carl-Bosch-Haus, Varrentrapstr.40, Großer Sitzungssaal, Beginn: 10.00 Uhr, Sitzungsende: 15.00 Uhr.)

### **Tagesordnung:**

1. Begrüßung / Tagesordnung.
2. Protokoll der letzten Sitzung.
3. Bericht über bisherige Aktivitäten und allgemeine Bemerkungen zu den Aufgaben und zur Zukunft des Arbeitskreises (Demme).
4. Vorstellung erster Ergebnisse.
5. Stand der Extraktion mit dem TOXILAB-Verfahren (Machbert).
6. Bestandsaufnahme "Festphasen-Extraktion" (Iten, Reiter).
7. Festlegung weiterer Aufgaben und der weiteren Verfahrensweise.
8. Sonstiges.

### **1. Begrüßung / Tagesordnung**

Herr Demme eröffnet die Sitzung und begrüßt alle Anwesenden (Anwesenheits- und aktuelle Mitgliederliste siehe Anhang).

**2. Das Protokoll der letzten Sitzung** (Mosbach, 20.04.95) wird ohne Änderungen angenommen.

### **3. Bericht über bisherige Aktivitäten und allgemeine Bemerkungen zu den Aufgaben und zur Zukunft des Arbeitskreises (Demme).**

Die Richtlinien für die AK's der GTFCh werden kurz angesprochen, insbesondere in Bezug auf die Gesamtmitgliederzahl pro Arbeitskreis. Nach Rücksprache mit Herrn Demme können weitere Interessenten, die sich aktiv beteiligen wollen, in den AK aufgenommen werden. Die Aktivitäten des Arbeitskreises seit der letzten Sitzung in Mosbach (1995) werden von Herrn Demme zusammengefaßt. Der AK "Extraktion" beschäftigt sich mit der Extraktion von Arzneimittelwirkstoffen v.a. aus Körperflüssigkeiten im Rahmen einer General-Unkown-Analyse (GUA). Als wichtige Grundlagen für die Extrahierbarkeit sollen Verteilungskoeffizienten und pKa-Werte für die Flüssig-Flüssig-Extraktion von Arzneimittelwirkstoffen ermittelt und katalogisiert werden.



#### 4. Vorstellung erster Ergebnisse

Verteilungskoeffizienten für das Extraktionslösungsmittelgemisch Ethylacetat/Diethylether (1:1, v/v) bei verschiedenen pH-Werten (pH 9 bis pH 1) wurden für einige ausgewählten Substanzen ermittelt (aus Rote-Liste-Gruppen: 70, 48, 05, 26, 09, 69) und von Herrn Demme vorgestellt.

Über die Weiterführung dieser Aufgabenstellung soll später entschieden werden (siehe dazu Tagesordnungspunkt 7).

#### 5. Stand der Extraktion mit dem TOXILAB-Verfahren (Machbert)

Herr Prof. Machbert stellt das TOXILAB-Verfahren bzw. das CLINTOX-System vor. Das System wird für die GUA von Urinproben eingesetzt. Es handelt sich um ein dünn-schichtchromatographisches Verfahren.

Die Urinprobe wird bei saurem und basischem pH-Wert extrahiert. Die für TOXILAB verwendeten Lösungsmittelgemische zur Extraktion wurden von Herrn Prof. Machbert analysiert und für das von ihm entwickelte CLINTOX-Verfahren eingesetzt. Für die saure Extraktion werden 5 ml Urin mit 0,5 ml HCl und 1 g NaCl versetzt und mit 2,5 ml Dichlormethan/n-Heptan (39:61, v/v) extrahiert. Für die basische Extraktion werden 5 ml Urin mit 2 g eines Salzgemisches (NaCl/NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: (84:8:8; w/w/w) versetzt und mit einem Gemisch aus Dichlormethan/1,2-Dichlorethan/2-Propanol/n-Heptan (15:25:25:35; v/v) extrahiert. Nach Extraktion wird der Überstand eingedampft und dünn-schichtchromatographisch analysiert. TOXILAB verwendet dazu Glasfaserkieselgelplatten, CLINTOX nach Machbert handelsübliche Kieselgel-DC-Platten. Für die Detektion hat Prof. Machbert ein Tauchverfahren entwickelt.

Die Nachweisempfindlichkeit dieses Verfahrens ist sehr hoch (z.B.: Amitriptylin: 0,2 µg/ml, Pentobarbital: 0,12-0,25 µg/ml). Die Extrakte können außerdem mit anderen Analyseverfahren analysiert werden (GC mit FID, NPD, MS-Detektor; nach Eindampfen auch GC/ECD).

#### 6. Bestandsaufnahme "Festphasen-Extraktion" (Iten, Reiter).

Herr Reiter (Lübeck) stellt die "Festphasen-Extraktion" zur GUA von Blut, Serum, Urin und Speichel vor. Er gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Vorschriften von de Zeeuw (1992), der Züricher (Dr. Iten) und der Lübecker Arbeitsgruppe.

Allen drei Extraktionsvorschriften ist der Einsatz von Mischphasen-SPE-Säulen gemeinsam, jedoch werden die Säulen verschiedener Hersteller verwendet (Isolute HX (ICT), Bond Elut Certify (VARIAN), Clean Screen DAU). Die SPE-Methoden unterscheiden sich in mehreren Schritten, insbesondere im Waschen der Säulen und Elution der Analyten. Die Wiederfindungsraten wurden bisher nur teilweise bestimmt.

#### 7. Festlegung weiterer Aufgaben und der weiteren Verfahrensweise

a) Die Sammlung von pKa-Werten soll fortgeführt werden.

b) "Blindwertversuche": verschiedene Lösungsmittelgemische sollen zur Flüssig/flüssig-Extraktion von Serumproben eingesetzt werden und danach mit verschiedenen Methoden (z.B. GC/FID, GC/NPD, GC/ECD, GC/MS, HPLC) analysiert werden. Zunächst soll damit

die Anwendbarkeit verschiedener Lösungsmittelgemische im Bezug auf Matrixbelastung ermittelt werden; später sollen dann Extraktionsausbeuten für ausgewählte Lösungsmittelgemische und Substanzen bestimmt werden.

**Lösungsmittelgemische:**

- a) Ethylacetat/Diethylether 1: 1 (v/v)
- b) Dichlormethan/Diethylether 7:3 (v/v)
- c) Diethylether
- d) Dichlormethan/2-Propanol 9:1 (v/v)
- e) Dichlormethan/2-Propanol/Ethylacetat 1:1:3 (v/v/v) nach Pflieger et al.  
(Mass Spectral and GC-DATA ... VCH, 1992, S. 6)

**sowie zusätzlich:**

- f) Ethylacetat (Vorschlag von Prof. Schmoldt)
- g) n-Hexan / Ethylacetat 7:3 (Vorschlag AK Qualitätskontrolle 06.12.96)
- h) n-Butylchlorid (Vorschlag AK Qualitätskontrolle 06.12.96)

**Vorschrift für die Extraktion von Serum mit den obengenannten Lösungsmitteln:**

- 1) 1 ml Serum mit 2 ml Puffer (z.B.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,1 M, pH 9.0) versetzen
- 2) 3 ml Lösungsmittelgemisch zugeben
- 3) 1 min schütteln (am Vortex)
- 4) 2 min zentrifugieren
- 5) 2 ml der organischen Phase abnehmen und unter Stickstoffstrom eindampfen

**Für GC-Analyse:**

- Rückstand in 100  $\mu\text{L}$  EtOH - zuvor versetzt mit 5  $\mu\text{g}$  Methaqualon/ 100  $\mu\text{l}$  EtOH - aufnehmen
- 1  $\mu\text{l}$  davon splitless in GC-System injizieren (Säule und sonst. Bedingungen nach eigenen Standardverfahren)

**Für HPLC:**

- Rückstand in 100  $\mu\text{L}$  EtOH - zuvor versetzt mit 5  $\mu\text{g}$  MPPH je 100  $\mu\text{l}$  EtOH - aufnehmen, davon ein Aliquot von 40  $\mu\text{l}$  injizieren. UV-Detektion (220 nm) oder andere Detektoren. (Falls 2  $\mu\text{g}$  MPPH zu viel Standard sind, eventuell weniger Standard zugeben).

**Für DC:**

- 50  $\mu\text{L}$  der ethanolischen Lösung der GC-Analyse (siehe oben) punktförmig auftragen (Kieselgel F254, MERCK), Fließmittel: Ethylacetat / MeOH / Ammoniak (TIAFT-Nr. 4), Registrierung der Bahn bei 210, 260 und 310 nm.

Für die **Extraktion von Serum nach Clin-Tox B** wird folgende Vorschrift vorgeschlagen:

- 1 ml Serum + 2 ml Wasser + 1,2 g Salz (NaCl/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/NaHCO<sub>3</sub>, 84:8:8)
- 3 ml Lösungsmittelgemisch (Dichlormethan / 1,2-Dichlorethan / 2-Propanol / n-Heptan (15:25:25:35; v/v)
- weitere Aufarbeitung: siehe oben 3) bis 5).

Eine **Vorschrift für die Festphasen-Extraktion** (Reiter, Lübeck) folgt später.

Für diese Versuche wird Herr Becker (Mainz) je 20 ml Humanserum an die teilnehmenden Labors verschicken.

---

### **Möglichkeit der Fortbildung auf dem Gebiet der klinischen Toxikologie**

Die Deutsche Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie bietet ihren Mitgliedern, insbesondere denen, die die Zusatzbezeichnung "Fachtoxikologe DGPT" erlangen wollen, Weiterbildungskurse in klinischer Toxikologie an. Die Kurse werden insbesondere von Prof. Wellhöner und Prof. Maurer betreut. Wie uns auf Anfrage mitgeteilt wurde, ist die Teilnahme an den Kursen auch für Mitglieder der GTFCh, die die Anerkennung als forensischer Toxikologe erlangen wollen, offen. Interessenten können sich an folgende Adresse wenden:

Kursorganisation ISS  
z.Hd. Frau Puls  
GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit  
Postfach 11 29  
85758 Neuherberg  
Tel: 089/3187-2266  
Fax: 089/3187-3323

Interessenten sollten unbedingt darauf hinweisen, daß sie den Fachtitel "Forensischer Toxikologe GTFCh" anstreben.

## In memoriam: Siegfried Rippstein

---

Thomas Briellmann

---

*Institut für Rechtsmedizin, Forensische Chemie und Toxikologie, Postfach, CH-4004 Basel*

Nur ein Jahr nach seiner Pensionierung ist Siegfried Rippstein im Alter von erst 65 Jahren in seinem Heim in der Nähe von Basel gestorben.

Siegfried Rippstein war von 1960 an 35 Jahre im Gerichtskemischen Laboratorium Basel tätig und übernahm zusätzlich von 1970 bis 1988 die Stellvertretung von Dr. James Bäumler, dem damaligen Basler Gerichtskemiker. Ausgebildet als Laborant, entwickelte Siegfried Rippstein seine Stärken vor allem in der Praxis bei toxikologischen und forensisch-chemischen Fragestellungen. Obwohl er ein Allrounder war und blieb, lag seine Vorliebe bei der Dünnschichtchromatographie. Daraus resultierten schon in den 60er Jahren mehrere vielbeachtete Publikationen über den dünnschichtchromatographischen Nachweis der Benzodiazepine Valium und Librium. Mittels Dünnschichtchromatographie entwickelte und verbesserte Siegfried Rippstein in all den Jahren viele Methoden zum Screening oder zur quantitativen Bestimmung von Arzneistoffen und toxischen Chemikalien. Noch beim letzten Mosbacher Symposium präsentierte Siegfried Rippstein ein Poster über den dünnschichtchromatographischen Nachweis von ACE-Hemmern.



Auch nachdem ihn gesundheitliche Probleme gezwungen hatten, sein Arbeitspensum zu reduzieren, verblieb Siegfried Rippstein ein geschätzter Mitarbeiter unseres Laboratoriums. Mit seiner immensen Erfahrung und dank seines äusserst guten Gedächtnisses konnte er uns allen immer wieder wesentliche Impulse bei der Lösung von vertrackten Fällen liefern. Im August 1995 ging er in den wohlverdienten Ruhestand.

Mit dem unerwarteten Tod von Siegfried Rippstein verliert das Gerichtskemische Laboratorium Basel, aber auch die GTFCh einen lieben Kollegen und Freund. Wir werden ihn in dankbarer Erinnerung behalten.

## Buchbesprechung

### Dioxine - Chemie, Analytik, Vorkommen, Umweltverhalten und Toxikologie der halogenierten Dibenzop-Dioxine und Dibenzofurane

Von Karlheinz Ballschmiter und Rainer Bacher.- VCH-Verlagsgesellschaft Weinheim, New York, Cambridge und Tokyo, 1996, 507 Seiten, ca. 85 Abbildungen, ca. 100 Tabellen, ISBN 3-527-28768-X, DM 228,--.

---

Thomas Daldrup

---

*Institut für Rechtsmedizin der heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf*

Aufgrund diverser Unfälle, von denen der in Oberitalien für das Dorf Seveso der folgenschwerste war, wurden bei vielen Menschen die "Dioxine" zum Synonym für heimlich bedrohende Gefahren, die mit der Produktion von Stoffen verbunden sind. Es gibt eine für den nur am Rande mit diesen Dioxinen sich Beschäftigenden eine kaum noch überschaubare Fülle an Literatur und Berichten zu dieser Stoffgruppe, so daß es schwer fällt, sich in überschaubarer Zeit ein adäquates Wissen anzueignen, welches für sachlich zu führende Diskussionen über die tatsächlichen Gefahren für Menschen und Umwelt notwendig ist. Es ist deshalb sehr verdienstvoll, daß die beiden für Fragen der Analytik und Umweltchemie sehr bekannten Autoren Ballschmiter und Bacher die Literatur zusammengetragen und in systematischer und kompetenter Art und Weise aufbereitet haben, so daß dieses in jeder Hinsicht lesenswerte und informative Handbuch entstanden ist.

Am Aufbau des Buches vorteilhaft ist, daß die diversen Themen monographisch in einzelnen Kapiteln abgehandelt werden, so daß der Leser sich relativ schnell über ein ihm gerade interessierendes Thema informieren kann, ohne daß hierzu das ganze Buch (erneut) gelesen werden müßte. Die Hauptthemen sind: Dioxine als Umweltproblem, Nomenklatur, Stoffeigenschaften, Bildung, Analytik, Vorkommen, Umwelt-

verhalten und Toxikologie der Dioxine sowie gesetzliche Regelung.

Das Kapitel Analytik nimmt über 100 Seiten in Anspruch. Es ist sicherlich für viele Analytiker interessant zu erfahren, welche Verfahren eingesetzt werden, um die Kontamination, Zersetzung und Neubildung der zu bestimmenden Dioxine zu vermeiden oder wie z.B. lipidhaltiges Material oder Öle extrahiert werden, um die einzelnen Stoffe dieser Klasse mittels GC/MS nachweisen zu können. Diese Verfahren lassen sich auch für die Bestimmung anderer lipophiler Substanzen adaptieren. Weiterhin ist natürlich von Interesse, etwas über die toxischen Eigenschaften dieser Stoffe zu erfahren. Es zeigt sich, daß tierexperimentell erhobene Befunde nicht oder nur kaum auf den Menschen übertragbar sind. Insgesamt ist das Wissen über die humantoxischen Wirkungen noch sehr lückenhaft, wobei sich die Unwägbarkeit des toxischen Risikos insbesondere aus den beim Menschen beobachteten extrem langen Halbwertzeiten ergibt; der Mensch ist nicht in der Lage, einmal aufgenommenes Dioxin vollständig zu eliminieren.

Das Buch ist sowohl für denjenigen, der sich intensiv mit dieser Stoffgruppe beruflich zu beschäftigen hat, als auch für alle Toxikologen, die in der einen oder anderen Weise sich zum Problem Dioxin äußern wollen, eine sehr lohnenswerte Lektüre.

## Buchbesprechung

### Peter Pluschke: Luftschadstoffe in Innenräumen

*Ein Leitfaden mit 31 Abbildungen und 44 Tabellen, 332 Seiten, Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1996, DM 98,-*

---

Claus Köppel

---

*Virchow-Klinikum, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin*

Angesichts des zunehmenden Umweltbewußtseins, aber auch der auch von vielen Medien geschürten Furcht vor Umweltschadstoffen nimmt es nicht wunder, daß die Problematik von Luftschadstoffen in Innenräumen Toxikologen, Hygieniker und im Öffentlichen Gesundheitsdienst Tätige zunehmend beschäftigt. Dies gilt auch für Umweltmedizinische Ambulanzen, in denen Patienten individualmedizinisch betreut werden. Wichtige Themen auf dem Gebiet der Luftschadstoffe in Innenräumen sind z.B. das "Sick Building Syndrome", die Belastung von in den 70er Jahren gebauten Schulgebäuden mit PCB oder die Innenraumbelastung durch Ausbringung von Pyrethroiden und anderen Schädlingsbekämpfungsmitteln.

Der Autor, der im Chemischen Untersuchungsamt Nürnberg tätig ist, hat den Versuch unternommen, den derzeitigen Kenntnisstand auf dem Gebiet in einem knapp gefaßten Buch interdisziplinär zusammenzufassen. Nach einem kurzen Überblick über die Geschichte der schlechten Luft, wird eine Zusammenfas-

sung über die Anfänge der Wohnhygiene, die Probleme durch unkritische Verwendung von Chemikalien im Innenraum und das Problem von raumluftechnischen Anlagen gegeben. Weiterhin wird ein Überblick zu den Fragen nach raumspezifischen, zeitlichen und klimatischen Einflußfaktoren und zum Einfluß der Außenluft auf die Luftqualität in Innenräumen gegeben.

Das Buch gibt einen guten Überblick über die typischen Quellen, ihr Emissionsverhalten und Leitgrößen für die toxikologische Bewertung für die wichtigsten Schadstoffe und schließt eine Lücke auf diesem Gebiet. Das umfangreiche Literaturverzeichnis umfaßt 727 Positionen und erlaubt bei speziellen Fragen einen Einstieg in die relevante Primärliteratur. Es dürfte für alle auf dem Gebiet der chronischen Toxizität, der forensischen Toxikologie, des Öffentlichen Gesundheitswesens und der Umweltmedizin Tätigen von großem praktischen Nutzen sein. Das Buch kann allen Interessierten nur wärmstens empfohlen werden.



