

Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Klaus Püschel

Die Bedeutung der neueren Hypno-Sedativa  
Zopiclon und Zolpidem im klinisch-toxikologischen  
Untersuchungsgut unter besonderer  
Berücksichtigung der klassischen Benzodiazepine

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

Levke Sonntag

aus Kiel

Hamburg 2009

Angenommen vom Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 23.09.2009

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs  
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der / die Vorsitzende: Prof. Dr. A. Schmoldt

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter / in: Prof. Dr. M. Korth

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter / in: PD Dr. D. Reuter

Meiner Familie und Oskar Schulz gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>6</b>
<b>2 FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>15</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>17</b>
3.1 MATERIAL.....	17
3.1.1 <i>Humanes Untersuchungsmaterial</i> .....	17
3.1.2 <i>Herstellung der Stammlösungen</i> .....	18
3.1.3 <i>Herstellung weiterer Lösungen</i> .....	19
3.1.4 <i>Geräte</i> .....	19
3.1.5 <i>Verbrauchsmaterial</i> .....	20
3.1.6 <i>Software</i> .....	20
3.2 METHODEN .....	20
3.2.1 <i>Serumproben</i> .....	20
3.2.2 <i>Validierung: Leistungsfähigkeit der LC-MS-Methode</i> .....	22
<b>4 ERGEBNISSE .....</b>	<b>28</b>
4.1 ETABLIERUNG EINER LC-MS-METHODE ZUR ANALYTIK VON ZOLPIDEM UND ZOPICLON IM SERUM .....	28
4.1.1 <i>Validierung: Leistungsfähigkeit der LC-MS-Methode</i> .....	28
4.1.2 <i>Ergebnis der Validierung</i> .....	30
4.1.3 <i>Valistat-Protokoll</i> .....	30
4.2 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG AUF ZOLPIDEM UND ZOPICLON .....	30
4.2.1 <i>Häufigkeit der Untersuchungen auf Zopiclon/Zolpidem aufgrund der Anamnese</i> .....	30
4.2.2 <i>Zopiclon-/Zolpidem-Nachweis bei der toxikologischen Erstuntersuchung</i> .....	31
4.2.3 <i>Zopiclon-/Zolpidem-Nachweis bei der retrospektiven LC-MS-Analyse</i> .....	32
4.2.4 <i>Untersuchung auf weitere Substanzen</i> .....	35
4.2.5 <i>Quantifizierung von Zolpidem und Zopiclon</i> .....	36
4.2.6 <i>Patientenkollektiv bezogen auf Zolpidem-/Zopiclon-Einnahme</i> .....	38
4.2.7 <i>Benzodiazepine in Kombination mit Zolpidem-/Zopiclon-Einnahme</i> .....	40
4.3 PATIENTENKOLLEKTIV .....	41
4.3.1 <i>Soziodemographische Angaben zu Alter und Geschlecht des untersuchten Patientenkollektivs</i> .....	41
4.3.2 <i>Angaben zur Anforderung der Untersuchungen</i> .....	43
4.3.3 <i>In der Notfallanalytik bestätigte Verdachtsdiagnosen</i> .....	44
4.3.4 <i>Geschlechts- und Altersverteilung der untersuchten Patienten in Bezug auf die Verdachtsdiagnosen</i> .....	49
4.3.5 <i>Aufschlüsselung nach angegebenen und indikationsverursachenden Medikamenten</i> .....	51
4.3.6 <i>Angaben zum Alkohol-Konsum</i> .....	56
<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>59</b>
5.1 ANALYSEMETHODEN ZUM NACHWEIS VON ZOLPIDEM UND ZOPICLON .....	59
5.2 MISSBRAUCH UND INTOXIKATION MIT ZOLPIDEM UND ZOPICLON .....	65
5.3 SCHLUSSFOLGERUNGEN .....	74
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>76</b>
<b>7 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>77</b>
<b>8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>85</b>
<b>9 TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>88</b>
9.1 TABELLENVERZEICHNIS .....	88

# Inhaltsverzeichnis

---

9.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	89
<b>10</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>90</b>
<b>11</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>I</b>
11.1	WEITERE TABELLE .....	I
11.2	VALISTAT-PROTOKOLLE .....	III
11.2.1	<i>Validierungsprotokoll zur Bestimmung von Zopiclon mittels LC-MS .....</i>	<i>III</i>
11.2.2	<i>Validierungsprotokoll zur Bestimmung von Zolpidem mittels LC-MS.....</i>	<i>IX</i>
11.3	CHROMATOGRAMME .....	XV
11.3.1	<i>exemplarisches Chromatogramm einer Zopiclon-Messung mittels LC-MS.....</i>	<i>XV</i>
11.3.2	<i>exemplarisches Chromatogramm einer Zolpidem-Messung mittels LC-MS .....</i>	<i>XVI</i>
11.4	POSTER.....	XVII
11.4.1	<i>Poster anlässlich der 16. Frühjahrstagung (Nord) der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg, 11. – 12.05.2007.....</i>	<i>XVII</i>
11.5	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	XVIII

### 1 Einleitung

Schlafstörungen gehören zu den häufigsten geklagten Beschwerden. Epidemiologischen Untersuchungen zufolge beträgt die Insomnie-Prävalenz in Deutschland 15% bis 35% (Weyerer und Dilling 1991; Hohagen et al. 1993; Simen et al. 1995), d.h. etwa jeder dritte Erwachsene leidet gelegentlich unter Ein- und/oder Durchschlafstörungen (Backhaus et al. 1996). Aufgrund der hohen Prävalenz von Schlafstörungen in Deutschland ist der Einsatz von Medikamenten zur Therapie der Insomnie hoch.

Schlafmittel spielen zusätzlich eine nicht unerhebliche Rolle hinsichtlich Medikamentenmissbrauches bis hin zur Intoxikation. Nach Ludewig (1999) traten in der BRD im Jahre 1994 ca. 50.000 Vergiftungen mit Arzneimitteln, vorwiegend bedingt durch Schlafmittel, auf. Köppel schätzte 1995, dass in Deutschland jährlich etwa 4.000 Menschen an den Folgen einer Vergiftung durch Schlafmittel versterben (Köppel 1995), und entsprechend der Daten von Hoffmeister unternehmen jährlich ca. 15.000 Menschen in der BRD einen Suizidversuch vorwiegend durch Einnahme von Schlafmitteln (Hoffmeister et al. 1991).

Im Rahmen der notfallmedizinischen Versorgung machen Vergiftungsnotfälle etwa 3-5% aller Gesamteinsätze aus, wobei schlaffördernde Mittel zu ca. 35% am Intoxikationsgeschehen beteiligt sind, meistens aufgrund einer suizidalen oder parasuizidalen Handlung. Die Schätzung 3-5% erscheint zu niedrig. Eine Überprüfung der Notfall-Einweisungen in die Hamburger Krankenhäuser UKE, AK-Altona, Wandsbek und Harburg ergab einen Anteil von Intoxikationen von 9,8% im Jahr 1985. Er lag damit höher als der der Herzinfarkte (7,3%) (Kaliner 1995).

Benzodiazepine nehmen hier eine Spitzenstellung ein, dicht gefolgt von stark sedierend wirkenden H<sub>1</sub>-Antihistaminika und den neueren Hypno-Sedativa Zolpidem und Zopiclon (Albrecht 1997).

Folgend dargestellt sind die verschiedenen Konzentrationsbereiche für einige Benzodiazepine, die in dieser Untersuchung vorkommen, hinsichtlich therapeutischer, toxischer und letaler Plasmakonzentration:

**Tabelle 1: Therapeutische/toxische/letale Plasmakonzentrationen für Benzodiazepine**

Wirkstoff	therapeutische Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	toxische Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	letale Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )
Alprazolam	0,005 – 0,05 (- 0,08)	0,1 – 0,4	k.A.
Bromazepam	(0,05 -) 0,08 – 0,2	0,3 – 0,4	(1 - ) 2
Clobazam	0,1 – 0,4	k.A.	k.A.
Diazepam	0,2 – 2 (- 2,5)	3 – 5	k.A.
Lorazepam	(0,02 -) 0,08 – 0,25	0,3 – 0,5	k.A.
Midazolam	0,04 – 0,1 (- 0,25)	1 – 1,5	k.A.

k.A. = keine Angabe

Quelle: M. Schulz, A. Schmoltdt (2003)

Die klassischen verschreibungspflichtigen Hypnotika (zum größten Teil Benzodiazepine) werden immer häufiger von Präparaten der neuen Generation wie den Benzodiazepinagonisten abgelöst. Dabei werden besonders die Z-Drugs Zopiclon und Zolpidem als Kurzzeittherapeutika bei Schlafstörungen eingesetzt. Diese beiden Substanzen scheinen über ein günstigeres Nutzen/Risiko-Verhältnis zu verfügen als die klassischen Benzodiazepine.

**Tabelle 2: Therapeutische/toxische/letale Plasmakonzentrationen für Zopiclon und Zolpidem**

	therapeutische Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	toxische Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	letale Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )
Zopiclon	< 0,1	0,15	0,6 - 1,8
Zolpidem	0,08 - 0,15 (-0,2)	0,5	2 - 4

Von Zopiclon wie von Zolpidem ist inzwischen eine Vielzahl von Präparaten auf dem deutschen Markt (s. Rote Liste, 14 Zopiclon-, 17 Zolpidem-Präparate, Stand Dezember 2007). Sie haben hinsichtlich der Verschreibungshäufigkeit bei Schlafstörungen erstmals im Jahre 2004 die Benzodiazepine als Schlafmittel überholt. Insgesamt wurden die Verordnungen von Hypnotika und Sedativa seit 1992 von 463 Mio. definierten Tagesdosen (sog. „defined daily doses“ DDD) auf 143 Mio. DDD im Jahre 2004 reduziert (Lohse und Müller-Oerlinghausen 2006).

## Einleitung

---

Trotz dieses seit 1992 zu beobachtenden starken Verordnungsrückgangs von Schlafmitteln um fast 70% (betroffen waren alle Gruppen von Hypnotika) blieb die Zahl der Verordnungen der Benzodiazepin-Analoga Zopiclon und Zolpidem stabil. Laut Arzneiverordnungsreport 2005 betragen die DDD im Jahre 2004 bei Zolpidem insgesamt 32,7 Mio., bei Zopiclon insgesamt 35,4 Mio. Im Vergleich dazu wurden insgesamt 58,7 Mio. DDD mittel- und langwirksame Benzodiazepinhypnotika und 7,2 Mio. kurzwirksame Benzodiazepine verordnet (Lohse und Müller-Oerlinghausen 2006).

Die Benzodiazepin-ähnlichen Hypnotika Zolpidem und Zopiclon wurden somit mit insgesamt 68,1 Mio. DDD um mehr als 2 Mio. definierte Tageseinzeldosen häufiger verschrieben als die klassischen Benzodiazepine.

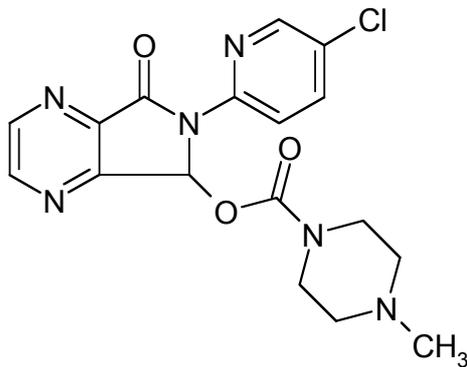
Zopiclon und Zolpidem gehören zur Gruppe der selektiven Benzodiazepin-Rezeptoragonisten, die chemisch nicht mit den Benzodiazepinen verwandt sind. Mit einer sehr kurzen Halbwertszeit von zwei bis drei Stunden (Zolpidem) und drei bis sechs Stunden (Zopiclon) wirken sie als Kurzzeit-Hypnotika. Es besteht daher die Gefahr einer „Entzugsschlaflosigkeit“ (Hoffmann 2005). Wie Benzodiazepin-Derivate haben sie aufgrund der bevorzugt zentralen Wirkungsweise sedativ-hypnotische Eigenschaften, weniger ausgeprägt wirken sie auch anxiolytisch, antikonvulsiv und muskelrelaxierend (Keup 1998). Während die Benzodiazepine aber in der Regel an alle  $\alpha$ -Untereinheiten des Gamma-Aminobuttersäure-A ( $\text{GABA}_A$ )-Rezeptors binden, bevorzugen Zopiclon wie auch Zolpidem die  $\alpha_1$ -Untereinheit des  $\text{GABA}_A$ -Rezeptors und haben gar keine oder nur geringe Affinität zu Rezeptoren mit anderen  $\alpha$ -Untereinheiten (Graham 1996). Diese Selektivität ist bei Zolpidem am ausgeprägtesten. Durch diese Bindung verstärken beide Substanzen im ZNS die GABAerge Neurotransmission.

Zopiclon, ein Cyclopyrolon-Derivat -1-(6-(5-Chlor-2-pyridyl)-6,7-dihydro-7-oxo-5H-pyrrolo (3,4-b) pyrazin-5-yl 4-methylpiperazin-1-carboxylat) (Abb. 1), ist das einzige therapeutisch eingesetzte Hypnotikum aus der Klasse der Cyclopyrolone (Goa und Heel 1986). Es wirkt v.a. auf die  $\text{GABA}_A$ -Rezeptoren

## Einleitung

---

im zerebralen Cortex, Cerebellum und Hippocampus, jedoch nicht auf die peripheren Rezeptorkomplexe. Es verhält sich wie ein typischer Agonist, indem es die inhibitorische Wirkung der Gamma–Aminobuttersäure verstärkt (Eichmann und Kunz 2007). Durch den Benzodiazepin-Rezeptor-Antagonisten Flumazenil kann Zopiclon aus seiner Bindung verdrängt werden (Piot et al. 1990).



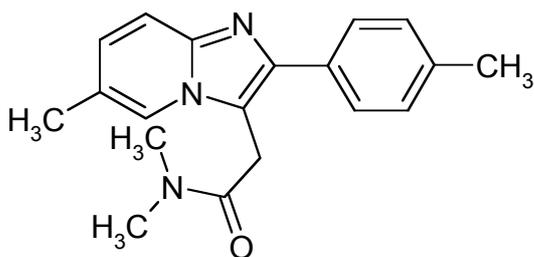
**Abb. 1: Strukturformel Zopiclon**

Zopiclon wird nach oraler Gabe, (im Allgemeinen 7,5 mg als therapeutische Dosis), schnell resorbiert, die maximale Plasmakonzentration wird bereits nach einer Stunde erreicht und liegt bei 0,02 bis 0,08 µg/ml (Kennel et al. 1990). Die Bioverfügbarkeit beträgt 80%, und die Plasmaproteinbindung ist mit 45% gering, wodurch das Interaktionspotential mit anderen Wirkstoffen in dieser Hinsicht als niedrig anzusetzen ist. Die Substanz wird rasch ins Zentrale Nervensystem (ZNS) aufgenommen. Die Metabolisierung erfolgt über eine Oxidation und Demethylierung der Muttersubstanz, die Metabolite spielen bei der Wirksamkeit und Wirkdauer von Zopiclon keine Rolle. Die Eliminationshalbwertszeit liegt bei etwa fünf Stunden, wodurch eine Verlängerung der Gesamtschlafzeit und Reduktion der nächtlichen Aufwachphasen erzielt werden kann, so dass Durchschlafstörungen behoben werden können. Eine Beeinträchtigung der Tagesbefindlichkeit tritt in der Regel

nicht auf. Im Gegensatz zu den meisten Benzodiazepinen führt Zopiclon zu keiner relevanten Beeinträchtigung der Schlafarchitektur (das ist das Wechselspiel der unterschiedlichen Schlafphasen). Als häufigste unerwünschte Nebenwirkung tritt bei etwa 4% der Patienten ein unangenehmer metallischer Geschmack auf, der auf die Ausscheidung des Wirkstoffes im Speichel zurückzuführen ist (Lüpke 2005).

Bei dem Hypnotikum Zolpidem (2-(4-Methyl-phenyl)-N,N,6-trimethylimidazol(1,2-a)-pyridin-acetamid) (Abb. 2) handelt es sich um ein Imidazopyridin-Derivat. Im Gegensatz zu den Benzodiazepinen wirkt Zolpidem nur sedativ-hypnotisch und kaum anxiolytisch, muskelrelaxierend und antikonvulsiv (Langtry und Benfield 1990).

Zolpidem wirkt durch hochselektive Bindung am zentralen Omega-1-(BZ<sub>1</sub>-) Rezeptor, der eine Komponente des makromolekularen Benzodiazepin-GABA-A-Rezeptorkomplexes bildet (Reinbold 1998). Mit den Omega-2-(BZ<sub>2</sub>-) Rezeptoren des Rückenmarks interagiert Zolpidem nicht, mit den peripheren Omega-3-(BZ<sub>p</sub>-) Rezeptoren nur wenig (Itier et al. 1996). Auch hier wirkt Flumazenil antagonistisch.



**Abb. 2: Strukturformel Zolpidem**

Nach oraler Gabe (Einzeldosis 10 mg Zolpidemtartrat, entsprechend 8,03 mg Zolpidem pro Filmtablette) wird Zolpidem rasch resorbiert und führt innerhalb

einer halben bis zwei Stunden zu maximalen Plasmakonzentrationen. Die therapeutische Serumkonzentration liegt bei 0,06-0,2 µg/ml, der toxische bei >0,2-0,5 µg/ml. Eine Serumkonzentration von 2-4 µg/ml gilt als komatös-fatal und potentiell letal. Zolpidem ist eher für Ein- als für Durchschlafstörungen geeignet, da die Eliminationshalbwertszeit mit ca. zweieinhalb Stunden kurz ist und die Wirkdauer etwa sechs Stunden beträgt.

Es besitzt eine Bioverfügbarkeit von 70%. Die Plasmaproteinbindung liegt bei 92%. Auch hier spielen aktive Metabolite für die Wirksamkeit keine relevante Rolle (Wyss et al. 1996; Salva und Costa 1995). Als unerwünschte Nebenwirkung wurde in seltenen Fällen das Auftreten von anterograden Amnesien und psychotischen Zuständen beobachtet, wobei Zolpidem im Allgemeinen als gut verträglich gilt (Hajak et al. 2005).

In zahlreichen Untersuchungen wie auch in der praktisch ärztlichen Erfahrung konnte für Zolpidem und Zopiclon eine den Benzodiazepin-Hypnotika vergleichbare Wirksamkeit bei geringeren Nebenwirkungen dargestellt werden (Keup 1998). Ihre relativ kurzen Eliminationshalbwertszeiten qualifizieren sie eher als Einschlafmittel denn als Durchschlafmittel, da sie praktisch keine Wirkungen mehr am nächsten Morgen aufweisen (fehlender hang over). Ein anfänglich angenommenes fehlendes Abhängigkeitspotential wurde inzwischen widerlegt, denn in verschiedenen Publikationen wurden Toleranzentstehung und Entzugssymptome nach Zolpidem-Einnahme beschrieben (Göder et al. 2001; Soyka et al. 2000).

Auch in Tierversuchen mit Mäusen konnte nach einer Zopiclon-Therapie über 21 Tage in einzelnen Fällen eine Abhängigkeit nachgewiesen werden (Piot et al. 1990).

Im Vergleich mit den Benzodiazepinen wird jedoch ein geringeres Missbrauchs- und Abhängigkeitspotenzial angenommen (Rüther und Parnham 1998; Hajak et al. 2003), zumal es sich bei den bisher berichteten Fällen um Einzelfälle handelt (Soyka et al. 2000).

Eine Analyse der bisher weltweit publizierten Fälle von Missbrauch und Abhängigkeit kommt zu dem Schluss, dass ein Risiko im Wesentlichen nur bei

Patienten mit bekannten Abhängigkeiten sowie bei psychiatrischen Patienten besteht (Hajak et al. 2003), weshalb vor allem davor gewarnt wird, diese Substanzen bei Benzodiazepinabhängigen zu verordnen (Keup 2004). Für die Einschätzung des Abhängigkeitsrisikos scheinen auch Faktoren wie Alter, Geschlecht und Alkoholmissbrauch neben der Dosierung und Dauer der Anwendung relevant zu sein (Göder et al 2001).

Auch wenn bei den so genannten Z-Drugs Zolpidem und Zopiclon im Rahmen von Monointoxikationen ein Koma mit Atemdepression offenbar nur nach Einnahme von extrem hohen Dosen auftritt, sind allerdings Mischintoxikationen, insbesondere in Kombination mit Ethanol, bezüglich ihrer überadditiven Wirkungen ebenso gefährlich wie bei Benzodiazepin-Mischintoxikationen zu bewerten (Kretschmar 2001).

Grundsätzlich kann aber davon ausgegangen werden, dass bei der breiten Anwendung Zopiclon und Zolpidem relativ sicher sind (Hajak et al. 2003). Trotz dieser deutlich günstigeren Konstellation hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) das Missbrauchs- und Abhängigkeitsrisiko von Zolpidem demjenigen von Benzodiazepinen gleichgestellt und Zolpidem in die Liste IV im Sinne der Wiener Konvention (die Konvention über psychotrope Substanzen ist ein Abkommen der Vereinten Nationen zur Kontrolle dieser Substanzen) eingeordnet (Lohse und Müller-Oerlinghausen 2006).

Intoxikationen mit Zolpidem und Zopiclon scheinen in jüngster Zeit allerdings häufiger vorzukommen als bisher angenommen. Der Giftnotruf Berlin berichtet für das Jahr 2005 über 484 Intoxikationsfälle mit Benzodiazepinen in ganz Deutschland, im Vergleich dazu wurden 110 Intoxikationsfälle mit Zolpidem und 158 mit Zopiclon erfasst, was ca. 50% der Intoxikationen mit Benzodiazepinen entspricht. Eine Ungenauigkeit in der angegebenen Anzahl besteht darin, dass nur die gemeldeten Intoxikationen berücksichtigt werden, die möglicherweise nur einen Teil der tatsächlichen Intoxikationen in Deutschland darstellt (Intensivstationen mit Erfahrungen mit dieser Art von Intoxikationen melden solche Fälle im Allgemeinen nicht).

## Einleitung

---

Das Giftinformationszentrum Nord (GIZ Nord) in Göttingen berichtet für diesen Zeitraum über insgesamt 143 Vergiftungen mit diesen Substanzen, die von den Bundesländern Niedersachsen, Hamburg, Bremen und Schleswig-Holstein gemeldet wurden. Es handelte es sich um 79 Intoxikationen mit Zopiclon und 64 mit Zolpidem (siehe Tab. 3).

**Tabelle 3: Anzahl der Mono-intoxikationen von Zopiclon und Zolpidem anhand der Daten des GIZ Nord (2005)**

Gewichtung	Zopiclon	Zolpidem	Gesamtergebnis
symptomlos	8	4	12
leicht	60	53	113
mittel	1	3	4
schwer	1	0	1
nicht beurteilbar	9	4	13
Gesamtsumme	79	64	143

Quelle: Giftinformationszentrum (GIZ) Nord, Göttingen 2006

Im Vergleich dazu wurden dem GIZ Nord für das Jahr 2005 insgesamt 930 Missbräuche mit Benzodiazepinen genannt (von insgesamt 30.000 Anfragen bzgl. Vergiftungen bzw. Verdacht auf Vergiftungen für alle Substanzgruppen, die Intoxikationen verursachen können). Dabei konnten Benzodiazepine in 560 Fällen als Hauptnoxe und in 250 Fällen als einzige Noxe verzeichnet werden. Von den 930 Gesamtnennungen wurden zum Beratungszeitpunkt 144 als symptomlos, 613 als leicht, 72 als mittelschwer und 18 als schwer gewichtet. Die restlichen 83 Fälle wurden entweder nicht dokumentiert oder waren nicht beurteilbar (s. Tab. 4). In keinem der gemeldeten Fälle wurde jedoch ein tödlicher Ausgang verzeichnet.

**Tabelle 4: Anzahl der Intoxikationen von Benzodiazepinen anhand der Daten des GIZ Nord (2005)**

Gewichtung	Benzodiazepine
Symptomlos	144
Leicht	613
Mittel	72
Schwer	18
nicht beurteilbar	83
Gesamtsumme	930

Quelle: Giftinformationszentrum (GIZ) Nord, Göttingen 2007

Führende Symptome der Intoxikation mit Z-Drugs sind die verschiedenen Grade der Bewusstseinsstörungen (von Somnolenz bis Koma), wobei die Erweckbarkeit noch lange erhalten bleibt.

Nach Aufnahme von hohen Dosen bei noch fehlender Symptomatik eignet sich als Ersttherapie die Verabreichung von Aktivkohle, sofern kein Aspirationsrisiko vorliegt. Die spezifische Antidottherapie wird mit Flumazenil (einem Benzodiazepin-Antagonisten) in der Dosierung von 0,3-2,0 mg (intravenös appliziert) durchgeführt.

Erst der Nachweis der Substanz in Untersuchungsmaterialien wie Blut, Erbrochenem, Mageninhalt, Urin, Getränken oder ggf. Resten von Tabletten ermöglicht in vielen Fällen, die (Vergiftungs-)Symptome zu erklären und adäquat zu behandeln.

In diesem Rahmen kommt den toxikologischen Laboratorien der Rechtsmedizin eine besondere Bedeutung hinsichtlich der Diagnose und Therapie zu. Für die Analytik muss ein differenziertes, ständig neuen Anforderungen angepasstes Methodenspektrum erarbeitet und optimiert werden, das beweissichere Analysen liefert. Neben dem qualitativen Wirkstoffnachweis gewinnen auch die präzisen quantitativen Konzentrationsbestimmungen zunehmend an Bedeutung, auch hinsichtlich der Sensitivität und Genauigkeit.

## 2 Fragestellung

Wie in der Einleitung ausführlich dargestellt, ist durch die Einführung der Hypno-Sedativa Zolpidem im November 1991 als Stilnox® bzw. 1992 als Bikalm® und Zopiclon 1992 als Ximovan® in Deutschland die bisher überwiegend mit Benzodiazepinen erfolgte Behandlung von Schlafstörungen und Schlaflosigkeit verändert und ergänzt worden. Hieraus ergab sich die Frage:

### **Welchen Stellenwert haben Zolpidem und Zopiclon in der klinischen Toxikologie?**

Erfahrungen in der Praxis der klinischen Toxikologie der Rechtsmedizin in Hamburg gaben allerdings bisher nur selten einen Hinweis auf eine Intoxikation mit den sog. Z-Drugs. Allerdings liegen hierzu keine lückenlosen Daten aufgrund analytischer Untersuchungen vor. In der Toxikologie werden eingesandte Notfallproben bei Verdacht auf eine Intoxikation oder eine Beeinflussung durch Fremdstoffen zunächst mit immunologischen Testverfahren auf die häufigsten illegalen Drogen und Medikamentengruppen „gescreent“. Gegebenenfalls folgen dann weitere Untersuchungen mittels gas- und/oder flüssigchromatographischer Methoden in Kombination mit verschiedenen Detektoren. Da Zopiclon und Zolpidem keine Benzodiazepin-Struktur besitzen, werden sie im immunologischen Screeningtest nicht erfasst und könnten in der Vergangenheit möglicherweise in manchen Fällen „übersehen“ worden sein, etwa dann, wenn andere toxikologische Befunde die klinische Symptomatik des Patienten bereits ausreichend erklärten oder andere klinische Befunde im Vordergrund standen und seitens der Klinik auf eine weiterführende Untersuchung verzichtet wurde. Ein spezieller Immunoassay für diese Substanzen ist bisher nicht im Handel. Zolpidem kann bisher zuverlässig nur in der GC-MS-Suchanalyse erfasst und Zopiclon nur bei gezielter Fragestellung mittels HPLC/UV-Detektion analysiert werden. Beide Methoden setzen allerdings eine aufwendige Aufarbeitung der Proben voraus.

Für eine erste Prüfung der Datenlage zur Intoxikationshäufigkeit mit diesen sog. Z-Drugs sollte daher zunächst eine neue LC-MS-(Screening)Methode zum sicheren Nachweis von entsprechenden Konzentrationen von Zolpidem und Zopiclon etabliert und validiert werden. In einem nächsten Schritt sollte eine entsprechende Anzahl der oben erwähnten Notfallproben aus einer repräsentativen Gruppe von Notfällen nachträglich auf das Vorhandensein von Zolpidem und Zopiclon untersucht werden. Diese Notfallproben entstammten einerseits aus dem Tagdienst, wurden aber auch außerhalb der Dienstzeit eingesendet. Dabei wurden auch die Einsendungen bezüglich Kinder und Bewusstseinsstörungen berücksichtigt.

Letztendlich sollte aufgrund der überprüften Daten der Notfallanalysen von Juni 2005 bis März 2006 entschieden werden, ob die Etablierung eines eigenständigen immunologischen Assays als routinemäßige Untersuchung für diese Substanzgruppe sinnvoll ist, und ob zusätzlich zum immunologischen Vortest ein grundsätzliches LC-MS-Screening auf Zopiclon und Zolpidem eingeführt werden muss.

(Intoxikationen mit dem „3. Z“, dem Zaleplon, sind im Institut für Rechtsmedizin bisher nicht nachgewiesen worden. Laut Arzneiverordnungs-Report 2005 betragen die DDD (defined daily doses) im Jahre 2004 bei Zaleplon insgesamt nur 0,4 Mio. (im Vergleich dazu lagen die DDD von Zolpidem bei 32,7 Mio. und von Zopiclon bei 35,4 Mio. für den gleichen Zeitraum) (Lohse und Müller-Oerlinghausen 2006). Zaleplon wurde daher aufgrund der geringen Verschreibungshäufigkeit und der fehlenden Datenlage im Institut für Rechtsmedizin in der vorliegenden Untersuchung nicht berücksichtigt).

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Material**

##### **3.1.1 Humanes Untersuchungsmaterial**

###### **3.1.1.1 Humanserum**

Die untersuchten Proben entstammen dem Untersuchungsgut des Instituts für Rechtsmedizin aus Notfalleinsendungen des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und anderer Hamburger Krankenhäuser aus dem Zeitraum 17.06.2005 bis 22.03.2006. Diese Notfallproben wurden aus einer repräsentativen Gruppe von Notfällen (bei Verdacht auf Intoxikation oder Beeinflussung durch Fremdstoffen) ausgewählt und entstammten einerseits aus dem Tagdienst, wurden aber auch außerhalb der Dienstzeit eingesendet. Dabei wurden auch die Einsendungen bezüglich Kinder und Bewusstseinsstörungen berücksichtigt.

###### **3.1.1.2 Leerserum**

Das Leerserum entstammt der Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Es handelte sich um Seren von Blutspendern, die vor der Verwendung auf das Vorhandensein toxikologisch oder analytisch relevanter Fremdstoffen getestet worden waren.

###### **3.1.1.3 Chemikalien**

Zopiclon (Ch.-B.: T603, Rhône-Poulenc Rorer, Frankreich)

Zolpidem (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland)

Fentanyl-D5, 100 µg/ml Stammlösung (Promochem, Wesel, Deutschland)

1-Chlorbutan (Merck-Schuchardt, Darmstadt, Deutschland)

Ameisensäure (Merck p.a., Darmstadt, Deutschland)

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Merck, Darmstadt, Deutschland)

n-Butylacetat (Merck p.a., Darmstadt, Deutschland)

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck, Darmstadt, Deutschland) (gesättigt)

Tetrachlorobiphenyl (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland)

Acetonitril (UltraGradient HPLC Grade) (J.T. Baker, Deventer, Holland)

Ethanol (J.T. Baker p.a., Deventer, Holland)

H<sub>2</sub>O (destilliert) p.a.

### **3.1.2 Herstellung der Stammlösungen**

#### **3.1.2.1 Stammlösung Zopiclon**

Zopiclon wird in einer Konzentration von 1 mg/ml in Acetonitril angesetzt, eine Arbeitslösung (1 µg/ml) wird durch 1:1000-Verdünnung mit Acetonitril hergestellt. Die Lösungen werden im Gefrierschrank bei -20°C gelagert.

#### **3.1.2.2 Stammlösung Zolpidem**

Zolpidem wird in einer Konzentration von 1 mg/ml in Ethanol angesetzt, eine Arbeitslösung (1 µg/ml) wird durch 1:1000-Verdünnung mit Ethanol hergestellt. Die Lösungen werden im Kühlschrank bei +4°C gelagert.

#### **3.1.2.3 Stammlösung Interner Standard (I.S.) Fentanyl-D5 für Zopiclon/Zolpidem**

Fentanyl D5 wird in der Konzentration 100 µg/ml in Methanol käuflich erworben. Die Arbeitslösung mit einer Konzentration von 1 µg/ml wird durch 1:100-Verdünnung mit Ethanol hergestellt. Beide Lösungen werden bei +4°C gelagert.

#### **3.1.2.4 Stammlösung I.S. für Benzodiazepine (3,4-3',4' Tetrachlorobiphenyl)**

3,4-3',4' Tetrachlorobiphenyl wird in einer Arbeitslösung in einer Konzentration von 1 ng/ml in Toluol angesetzt und bei +4°C gelagert.

### 3.1.3 Herstellung weiterer Lösungen

ECD-Puffer:

Natriumcarbonatpuffer 1 mol/L

10,5 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (wasserfrei) in 100 ml destilliertem Wasser lösen

pH-Wert: 11,4

Alkalischer Phosphatpuffer:

(1 Teil gesättigte  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Lösung + 3 Teile  $\text{H}_2\text{O}$ )

Eluent C:

20% Acetonitril, 80% Wasser, 0,1% Ameisensäure

Die Haltbarkeit der Lösungen ist auf 2 Jahre festgesetzt worden.

### 3.1.4 Geräte

Vortex Mixer "Vortex Genie 2" (Scientific Industries, New York, USA)

Schüttler, Eppendorf Mixer 5432 (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Zentrifuge, Eppendorf Centrifuge 5415D (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

$\text{N}_2$ -Evaporator mit Metallblock-Thermostat VLM 2.0 (VLM GmbH, Bielefeld, Deutschland)

Pipetten (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Gaschromatograph mit Elektronen-Capture-Detektor, Hewlett Packard 5890, Serie II (Hewlett Packard, Avondale, Pennsylvania, USA)

LC-MS, Thermo Finnigan LCQ Duo mit ESI-Interface (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA)

### **3.1.5 Verbrauchsmaterial**

Pipettenspitzen 10, 100, 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Reaktionsgefäße 1,5 ml (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)

Reaktionsgefäße 2 ml (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland)

Autosampler-Gefäße (z.B. Varian Inc., Palo Alto, California, USA)

### **3.1.6 Software**

Valistat® 1.0 Software (Arvecon GmbH, Walldorf, Deutschland)

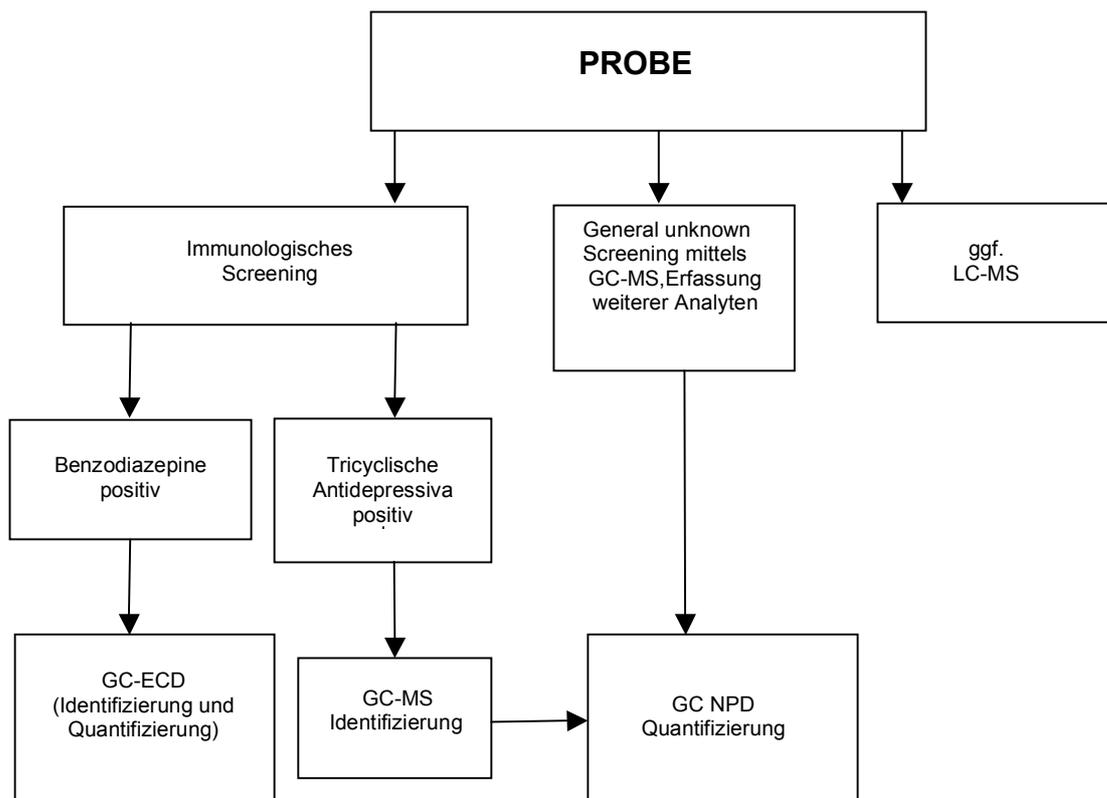
## **3.2 Methoden**

### **3.2.1. Serumproben**

#### **3.2.1.1 Untersuchungsablauf**

Es wurden 172 Serumproben von Patienten, die bereits im Rahmen der Notfall-Diagnostik im Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf mit der Anforderung „Toxikologisches Screening“ von Juni 2005 bis März 2006 eingesandt und untersucht worden waren, nachuntersucht. Die Patienten waren aufgrund einer Intoxikations-Verdachtsdiagnose und/oder einer klinischen Symptomatik auffällig geworden.

Die Routine-Untersuchungen im Rahmen der toxikologischen Notfalldiagnostik werden i.d.R. wie in folgendem Schema dargestellt durchgeführt:



**Abbildung 3: Untersuchungsablauf für Notfallproben**

GC = **G**aschromatographie; ECD = **E**lectron **C**apture **D**etection; GC-MS = **G**aschromatographische **M**assenspektrometrie; LC-MS = **F**lüssigkeitschromatographie-**M**assenspektrometrie („**L**iquid **C**hromatography-**M**ass **S**pectrometry“); GC NPD = **G**aschromatographie mit **S**tickstoff-**P**hosphor-selektivem **D**etektor

Die zu untersuchenden Blutproben der eingewiesenen Notfallpatienten werden zunächst bei fehlender Angabe der Anamnese einem immunologischen Screening unterzogen. Fällt dieses negativ aus, wird mit dem anfordernden Arzt / der anfordernden Ärztin geklärt, ob in einer ungerichteten Suchanalyse (sog. „General unknown Screening“) mittels GC-MS die Suche nach unbekanntem, im immunologischen Screening nicht erfassten Analyten fortgesetzt werden soll. Sind in dem immunologischen Screening Benzodiazepine nachweisbar, werden diese mittels Gaschromatographie und ECD bestätigt. Können Tricyclische Antidepressiva im Vortest nachgewiesen werden, so folgt die weitere Bestimmung per GC-MS und GC NPD. Um weitere Analyten zu erfassen, für die keine immunologischen Tests auf dem Markt sind,

wird ein „General unknown Screening“ mittels GC-MS und ggf. LC-MS durchgeführt. Für die Z-Drugs existiert bislang kein eigener Immunoassay. In dieser Arbeit wurden alle 172 Serumproben mit der neu etablierten LC-MS-Methode zum Nachweis von Zopiclon und Zolpidem retrospektiv untersucht.

### **3.2.1.2 Grundprinzip der LC-MS**

Die LC-MS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) stellt eine Kopplung der Flüssigkeitschromatographie mit der Massenspektromie dar. Zuerst erfolgt eine chromatographische Auftrennung der Analyten in der Probe mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie. Die Ionisation der Analytmoleküle erfolgt bei Atmosphärendruck (Atmospheric Pressure Chemical Ionization APCI) oder per Elektrospray-Ionisation (ESI). Für die vorliegenden Untersuchungen wurde die Elektrospray-Ionisation (ESI) verwendet. Dabei wird an eine Kapillare, die das HPLC-Eluat ins Interface führt, eine Hochspannung angelegt. Diese sorgt gleichzeitig für die Überführung des Eluates in die Gasphase und für die Ionisation der Analyten.

Der ESI Prozess läuft in vier Schritten ab. Zunächst erfolgt die Dispersion der Probenlösung mit Bildung elektrisch geladener Tröpfchen. Durch kontinuierliches Verdampfen des Lösungsmittels nimmt die Oberflächenladung der Tröpfchen zu. Der wiederholte und spontane Zerfall dieser Tröpfchen in Mikrotröpfchen erfolgt aufgrund hoher Ladungsdichte (sog. „Coulomb-Explosionen“). Danach werden die Ionen von dem unter Atmosphärendruck stehenden Ionisationsbereich in den Vakuumbereich des Massenspektrometers transportiert und desolvatisiert (Pfuhl 2005).

### **3.2.2 Validierung: Leistungsfähigkeit der LC-MS-Methode**

#### **3.2.2.1 Selektivität**

Die Selektivität ist die Fähigkeit einer Methode, verschiedene nebeneinander zu bestimmende Analyten ohne gegenseitige Störungen oder Störungen durch andere endogene oder exogene Substanzen (Metaboliten, Verunreinigungen, Abbauprodukte, Matrix) zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren.

### 3.2.2.2 Linearität

Die Linearität einer analytischen Methode ist ihre Fähigkeit, innerhalb eines gegebenen Bereiches Testergebnisse zu liefern, die direkt proportional zur Konzentration (Menge) des Analyten in der Probe sind.

### 3.2.2.3 Genauigkeit

Unter Genauigkeit wird der Abstand eines einzelnen Wertes vom Sollwert verstanden, hervorgerufen durch systematische und zufällige Fehler.

An acht verschiedenen Tagen wurden je zwei Proben pro Konzentration aufgearbeitet (QC1, QC2). Es wurden folgende Parameter bestimmt: Richtigkeit und Präzision (Wiederholpräzision und Laborpräzision).

Richtigkeit: Unter Richtigkeit wird der Abstand des Mittelwertes vom Sollwert verstanden. Das Ausmaß wird gewöhnlich in Form eines systematischen Fehlers (Bias) (in Prozent) ausgedrückt.

Präzision: Präzision ist der Grad der Streuung der einzelnen Werte um den Mittelwert. Das Maß für die Präzision wird gewöhnlich in Form der „Impräzision“ ausgedrückt und als eine Standardabweichung der Messergebnisse berechnet. Höhere Impräzision wird durch eine höhere Standardabweichung ausgedrückt. Die Wiederholpräzision (= Intraday-Präzision) ist als Präzision unter Bedingungen, bei denen unabhängige Messergebnisse mittels derselben Methode mit identischem Probenmaterial im selben Labor von derselben Person mit derselben Gerätschaft innerhalb kurzer Zeitintervalle (z.B. innerhalb eines Tages) erhalten werden, zu verstehen.

Die Laborpräzision (= Interday-Präzision) ist als Präzision bei der Bestimmung derselben Probe innerhalb eines Labors bei bewusster Änderung eines Parameters (z.B. Person, Gerätschaft oder Zeit) definiert. Die tagesverschiedene Laborpräzision, bei der der Zeitfaktor „Tag“ zwischen den Bestimmungen variiert, ist die gängigste Variante der Laborpräzision.

Die Richtigkeit wurde für eine Konzentration im unteren (QC1) und eine im oberen (QC2) Bereich der Kalibrationskurve bestimmt. Es wurde eine relative

Standardabweichung (RSD) von maximal  $\pm 20\%$  im niedrigen und  $\pm 15\%$  im hohen Konzentrationsbereich gefordert.

### **3.2.2.4 Stabilität**

Die chemische Stabilität eines Analyten in einer gegebenen Matrix wird unter bestimmten Bedingungen für gegebene Zeitintervalle (z.B. unter Lagerungsbedingungen) definiert.

Eine aufgearbeitete QC2-Probe wurde an fünf aufeinander folgenden Tagen unter identischen Untersuchungsbedingungen gemessen. Zwischen den Messungen wurde sie bei Kühlschranktemperatur ( $+4^{\circ}\text{C.}$ ) gelagert.

### **3.2.2.5 Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze**

Die Nachweisgrenze (NG oder Limit of Detection, LOD) stellt den kleinsten Analytgehalt dar, der mit einer vorgegebenen Sicherheit (99%) vom Leerwert unterscheidbar ist. Besitzt eine Probe genau diesen Gehalt des Analyten, so wird in 50% aller Fälle der konkrete Messwert kleiner sein als die Nachweisgrenze.

Die Bestimmungsgrenze (BG oder Limit of Quantification, LOQ) ist der kleinste Gehalt, der mit einer vorgegebenen relativen Ergebnisunsicherheit (33%, Signifikanz: 99%) bestimmt werden kann. Diese Grenzen wurden in dieser Studie basierend auf der DIN 32645 berechnet.

### **3.2.2.6 Wiederfindungsrate**

Die absolute Wiederfindung ist definiert als kompletter Transfer des Analyten aus der Matrix in die zu vermessende Lösung. Sie wird bestimmt aus einem Verhältnis der Signale einer gleich zugesetzten Menge des Analyten bzw. Standards zu einer biologischen Probe und einer nicht extrahierten Originallösung (= 100%) (Peters et al. 2004).

### 3.2.2.7 Extraktion von Zopiclon und Zolpidem aus dem Serum

- 250 µl Serum werden in ein 2 ml-Reaktionsgefäß gegeben
- Zugabe von 20 µl der Arbeitslösung des internen Standards (I.S.) Fentanyl-D5 (1 µg/ml) (Endkonzentration: 20 ng / 250 µl Serum)
- Zugabe von 250 µl alkalischem Phosphatpuffer
- 5 min schütteln
- Zugabe von 1000 µl 1-Chlorbutan
- 5 min schütteln
- 5 min zentrifugieren bei 14.000 rpm
- Überstand in 1,5 ml-Reagiergefäß überführen
- unter Stickstoff bei 40°C einengen
- mit 250 µl Eluent C aufnehmen
- 2 min sorgfältig schütteln
- 10 min zentrifugieren bei 14.000 rpm
- je 100 µl Extrakt in ein GC-Proben-Gefäß mit Insert überführen und verschließen.

### 3.2.2.8 Kalibration

Für die Validierung der Methode wurden sechs Kalibrationskurven an sechs verschiedenen Tagen zur Bestimmung der Linearität und der analytischen Grenzen aufgearbeitet und vermessen. Außerdem wurden an acht verschiedenen Tagen jeweils zwei Qualitätskontrollen in zwei verschiedenen Konzentrationen aufgearbeitet (QC1 und QC2).

Für die Erstellung der Kalibrationskurven und der Qualitätskontrollen wurden homogene Serum-Pools jeweils mit Zopiclon und Zolpidem dotiert. Diese wurden anschließend zu einzelnen Proben à 250 µl aliquotiert und bis zur Aufarbeitung bei –20°C gelagert.

Die für die jeweiligen Analyten verwendeten Konzentrationen sind in den folgenden Tabellen aufgeführt:

**Tabelle 5: Kalibrationskurve für Zopiclon**

	Kalib. 0	Kalib. 1	Kalib. 2	Kalib. 3	Kalib. 4	Kalib. 5	Kalib. 6	QC1	QC2
(µg/ml)	0	0,01	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,025	0,2

Kalib.= Kalibrator

QC = Qualitätskontrolle

**Tabelle 6: Kalibrationskurve für Zolpidem**

	Kalib. 0	Kalib. 1	Kalib. 2	Kalib. 3	Kalib. 4	Kalib. 5	QC1	QC2
(µg/ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,2	0,5

Kalib.= Kalibrator

QC = Qualitätskontrolle

### 3.2.2.9 Bestimmung der Selektivität

Leerproben:

Es wurden zehn Serumproben von verschiedenen Probanden ohne Zusatz von Zolpidem, Zopiclon und I.S. gemäß Vorschrift aufgearbeitet und mittels LC-MS gemessen.

### 3.2.2.10 Bestimmung der Wiederfindung

1. Matrixproben: Es wurden je vier QC1- und je vier QC2-Proben ohne I.S. extrahiert. Der interne Standard Fentanyl-D5 (5 ng) wurde erst nach dem Einengen des Extraktes und nach Aufnahme in den Eluenten hinzugegeben.
  2. Lösungsmittelproben: Es wurden je vier Proben angesetzt, die entsprechend der QC1-Proben die Konzentrationen 0,0065 µg Zopiclon und 0,050 µg Zolpidem sowie 5 ng Fentanyl-D5, bzw. entsprechend QC2: 0,050 µg Zopiclon, 0,125 µg Zolpidem und 5 ng internen Standard enthielten.
- Nach Analyse mittels LC-MS wurden die Peakflächen des IS und des Analyten ermittelt und die Wiederfindungsrate nach Extraktion bestimmt.

### 3.2.2.11 Extraktionsmethode zur Bestimmung von Benzodiazepinen im Serum mittels GC-ECD (Electron Capture Detector)

- 500 µl Serum in 2 ml-Reagiergefäß vorlegen
- Zugabe von 20 ng des I.S. (Tetrachlorobiphenyl)
- Zugabe von 500 µl „ECD-Puffer“
- 2 min schütteln
- Zugabe von 500 µl Butylacetat
- 5 min schütteln
- 3 min zentrifugieren bei 14.000 rpm
- Überführung des Überstandes (je 100 µl ) in GC-Röhrchen mit Einsatz.

### 3.2.2.12 LC-MS Methode

HPLC:

-Säule: Waters Symmetry RP18, 150x2,1 mm, 3 µm

-Eluent: 20% Acetonitril, 80% Wasser, 0,1% Ameisensäure

-isokratische Elution bei 0,2 ml/min

MS:

-ESI + 4KV, heated capillary: 150°C, capillary voltage: 5V, tube lens 0V, sheath gas 45 arbitrary units, run time 20 min.

Segment 1: 4,4 min: Full scan ms/ms parent ion: m/z 389, collision energy 30%

Segment 2: 7,6 min : Full scan ms/ms parent ion m/z 308, collision energy 50%

Segment 3: 8 min : Full scan ms/ms parent ion m/z 342, collision energy 50%

Tune file: zopiclon-tune.LCQtune

Methode: zopiclon\_zolpidemsegm.meth

Validierung mittels Valistat® 1.0 Software (Arvecon GmbH, Walldorf, Deutschland)

### 4 Ergebnisse

#### 4.1 Etablierung einer LC-MS-Methode zur Analytik von Zolpidem und Zopiclon im Serum

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete LC-MS-Methode zur Bestimmung von Zolpidem und Zopiclon in Humanserum wurde im Toxikologischen Labor des Institutes für Rechtsmedizin entwickelt. Sie wurde gemäß der Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen validiert. Da es sich vor allem um Fragestellungen im Rahmen der Notfall-Analytik handelt, sollte die Methode schnell, empfindlich und gerichtsverwertbar sein. Ein weiteres Ziel war es, mit nur einer Methode beide Substanzen nachweisen zu können.

##### 4.1.1 Validierung: Leistungsfähigkeit der LC-MS-Methode

###### 4.1.1.1 Selektivität

Bei keiner der untersuchten Proben traten Interferenzen beim Nachweis bzw. der Bestimmung der Analyten Zopiclon und Zolpidem auf.

###### 4.1.1.2 Linearität

Die Bestimmungsmethode erwies sich für Zopiclon als linear im Kalibrationsbereich von 0,01 bis 0,25 µg/ml und als linear für Zolpidem im Kalibrationsbereich von 0,1 bis 0,5 µg/ml (s. Valistat-Protokoll für Zolpidem und für Zopiclon im Anhang). Der Korrelationskoeffizient  $r^2$  lag für Zopiclon bei 0,999, für Zolpidem ebenfalls bei 0,999.

Bei der Testung auf Ausreißer mittels Grubbs-Test (Signifikanzniveau: 95%) konnten keine Ausreißer festgestellt werden.

### **4.1.1.3 Genauigkeit**

Im Detail konnte für Zolpidem für die niedrige Konzentration hinsichtlich Wiederhol- und Laborpräzision eine RSD von im Mittel 7,14% erzielt werden, für die hohe Konzentration eine RSD von im Mittel 9,69%. Für Zopiclon betrug die RSD bei niedriger Konzentration im Mittel 16,6% und bei hoher Konzentration im Mittel 11,74%.

### **4.1.1.4 Stabilität**

Die nachgewiesenen Konzentrationen lagen innerhalb einer Schwankungsbreite von 10% und damit innerhalb der erforderlichen Grenzen ( $\pm 15\%$ ).

### **4.1.1.5 Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze**

Für Zolpidem ließ sich eine Bestimmungsgrenze von 0,1  $\mu\text{g/ml}$  bei einer Signifikanz von 99% ermitteln, die Nachweisgrenze wurde mit 0,03  $\mu\text{g/ml}$  bestimmt. Bei Zopiclon lag die Bestimmungsgrenze mit 0,04  $\mu\text{g/ml}$  bei einer Signifikanz von 99%. Die Nachweisgrenze konnte mit 0,01  $\mu\text{g/ml}$  bestimmt werden.

### **4.1.1.6 Wiederfindungsrate**

Bei Zolpidem lag die Wiederfindungsrate für die niedrige Konzentration (0,2  $\mu\text{g/ml}$ ) bei 50,0%. Für die hohe Konzentration (1,0  $\mu\text{g/ml}$ ) wurde die Wiederfindungsrate bei 67,5% gemessen. Für Zopiclon ließ sich für die niedrige Konzentration (0,025  $\mu\text{g/ml}$ ) eine Wiederfindungsrate von 68,1% messen. Für die hohe Konzentration (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ) lag die Wiederfindungsrate bei 57,4%. Gefordert sind hier Wiederfindungsraten von mindestens 50%.

### **4.1.2 Ergebnis der Validierung**

Als Ergebnis der Validierung lässt sich feststellen, dass alle ermittelten Validierungsparameter wie Spezifität, Linearität, Präzision, Richtigkeit und Stabilität innerhalb der vorgegebenen Grenzen lagen. Damit erfüllt die in dieser Arbeit verwendete LC-MS-Methode zum Nachweis von Zolpidem und Zopiclon die gültigen Anforderungen an die Durchführung von Analysen gemäß den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen.

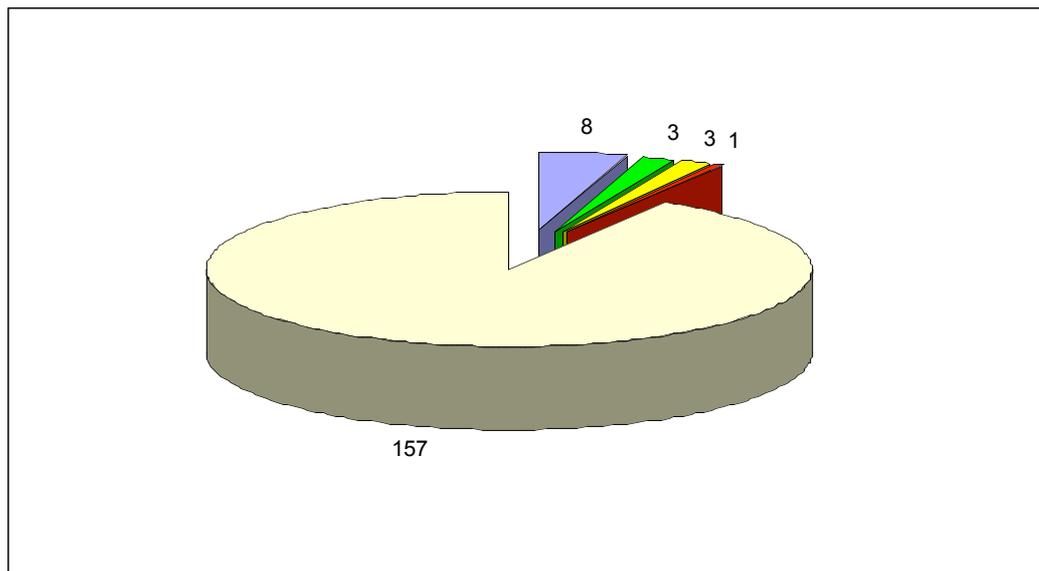
### **4.1.3 Valistat-Protokoll**

Die Validierung ist zusammenfassend in dem „Valistat-Protokoll“ zusammengefasst und wurde in das Qualitäts-Handbuch des Labors integriert. Das „Valistat-Protokoll“ ist im Anhang angefügt (s. Anhang S. III ff.).

## **4.2 Ergebnisse der Untersuchung auf Zolpidem und Zopiclon**

### **4.2.1 Häufigkeit der Untersuchungen auf Zopiclon/Zolpidem aufgrund der Anamnese**

Von den insgesamt 172 untersuchten Proben war bei elf Fällen anamnestisch eine vorherige Einnahme von Zopiclon und bei vier eine solche von Zolpidem bekannt. In vier Fällen (einmal auf Zolpidem, dreimal auf Zopiclon) wurden Verlaufsuntersuchungen angefordert. Damit hatten anamnestisch ermittelt drei Patienten Zolpidem und acht Patienten Zopiclon eingenommen (s. Tab. 7, 8 und Abb. 4). Hierbei ist grundsätzlich zu beachten, dass die Anamnesen von den Ärzten bzw. Schwestern ganz individuell und nach verschiedenen Maßstäben auf dem Anforderungsschein festgehalten werden. Gerade beim (nächtlichen) Verdacht auf Alkohol-Intoxikation wird in der Regel noch nach Nicht-Alkohol-Ursachen gefragt, da dann nicht der Instituts-Nachtdienst sondern ein Toxikologe zur Untersuchung erscheinen muss.

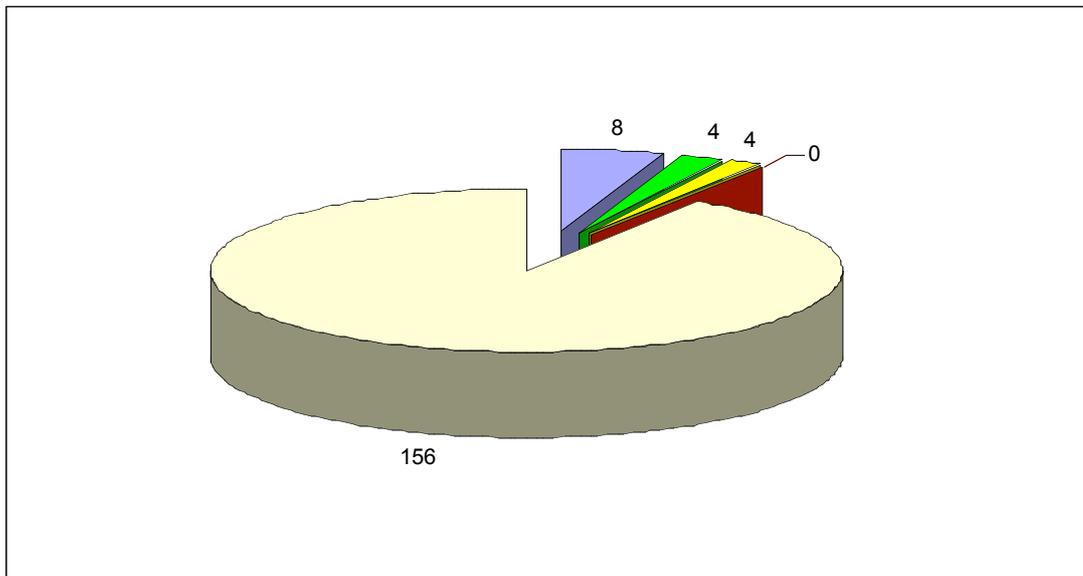


**Abbildung 4: Anzahl der Zopiclon- und Zolpidem-Einnahme bekannt durch Anamnese**

Blauer Abschnitt = Zopiclon-Einnahme (n = 8); grüner Abschnitt = Zolpidem-Einnahme (n = 3); gelber Abschnitt = Verlaufskontrolle Zopiclon (n = 3); roter Abschnitt = Verlaufskontrolle Zolpidem (n = 1); hellgelber Abschnitt = nicht-Zopiclon bzw. -Zolpidem-Einnahme (n = 157)

### 4.2.2 Zopiclon-/Zolpidem-Nachweis bei der toxikologischen Erstuntersuchung

Bei der chemisch toxikologischen Untersuchung der Blutproben auf Zolpidem und Zopiclon wurden bei der notfallmäßigen Erstuntersuchung der insgesamt 168 Notfall-Patienten (die Untersuchung beinhaltete insgesamt 172 Fälle, von denen vier Verlaufskontrollen waren) in vier Fällen Zolpidem und acht Fällen Zopiclon gefunden (s. Tab. 7, 8 und Abb. 5). Nicht in allen Fällen wurden die Proben vollständig analysiert, z.B. dann nicht, wenn die bereits erhobenen und mitgeteilten Befunde oder andere klinische Untersuchungen die Symptome des Patienten hinreichend erklärten und die Klinik auf weitere Analysen (auf Rücksprache) verzichtete.

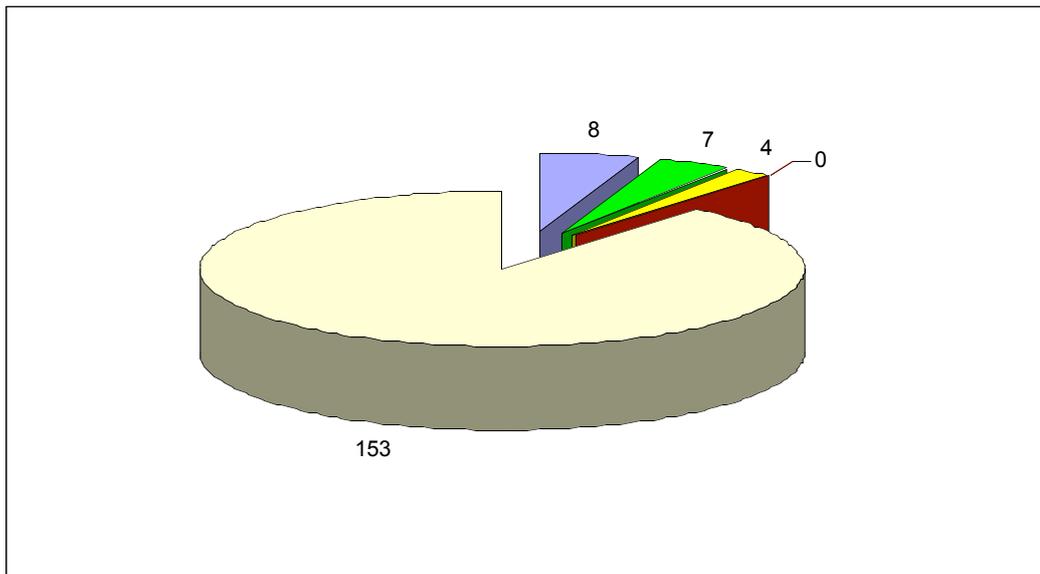


**Abbildung 5: Häufigkeit des Nachweises von Zopiclon und Zolpidem anhand der toxikologischen Erstuntersuchung**

Blauer Abschnitt = Zopiclon-Einnahme (n = 8); grüner Abschnitt = Zolpidem-Einnahme (n = 4); gelber Abschnitt = Verlaufskontrolle Zopiclon (n = 4); roter Abschnitt = Verlaufskontrolle Zolpidem (n = 0); hellgelber Abschnitt = nicht-Zopiclon bzw. -Zolpidem-Einnahme (n = 156)

### 4.2.3 Zopiclon-/Zolpidem-Nachweis bei der retrospektiven LC-MS-Analyse

Bei der vollständigen Nachuntersuchung aller Proben mit der neu etablierten LC-MS-Methode wurden in drei weiteren Blutproben (Fall 17, 18, 19) zusätzlich Zolpidem nachgewiesen (s. Tab. 7, 8 und Abb. 6), die vorher weder anamnestisch angegeben noch durch die erste toxikologische Untersuchung detektiert wurden, weil die Klinik nach der Durchsage vorläufiger Ergebnisse auf weitere Untersuchungen verzichtete (weil die Befunde der z.B. immunologischen Untersuchungen die Symptomatik bereits hinreichend erklärten).



**Abbildung 6: Anzahl des Nachweises von Zopiclon und Zolpidem anhand der retrospektiven LC-MS**

Blauer Abschnitt = Zopiclon-Einnahme (n = 8); grüner Abschnitt = Zolpidem-Einnahme (n = 7); gelber Abschnitt = Verlaufskontrolle Zopiclon (n = 4); roter Abschnitt = Verlaufskontrolle Zolpidem (n = 0); hellgelber Abschnitt = nicht-Zopiclon bzw. -Zolpidem-Einnahme (n = 153)

Bei der quantitativen Analyse zeigte sich, dass als noch therapeutisch geltende Konzentrationen ( $< 0,2 \mu\text{g/ml}$  Zolpidem,  $< 0,1 \mu\text{g/ml}$  Zopiclon) nur in je zwei Fällen der Zolpidemaufnahme (Fall 1 und 17) und Zopiclonaufnahme (Fall 6 und 16) vorkamen. Bei zwei Zolpidem-Intoxikationen (Fall 4 und 18) und einer Zopiclon-Intoxikation (Fall 9) wurden über zehnfach übertherapeutische Serumkonzentrationen gemessen (Tab. 7).

**Tabelle 7: Genaue Auflistung der Zopiclon- und Zolpidem-Fälle mit zusätzlichem Nachweis anderer Fremdstoffe und klinischen Angaben**

Fall	Probe	Alter (Jahre)	Sex	Zolpidem (µg/ml) Erstuntersuchung	Zolpidem (µg/ml) Nachuntersuchung	Zopiclon (µg/ml) Erstuntersuchung	Zopiclon (µg/ml) Nachuntersuchung	Alkohol (‰)	Zusätzlicher Nachweis anderer Fremdstoffe (µg/ml)	Klinische Angaben
1	31	21	w	0,3	0,15				Promethazin (0,7)	Promethazin-Intoxikation in suizidaler Absicht
17	36	62	m	nicht untersucht	0,03			1,90		Zustand nach Fahrradsturz
2	53	40	m	1,3	0,93				Benzodiazepine Psychopharmaka nrb	Alkohol-Intoxikation und fragliche andere Medikamentenintoxikation bei chronischer Depression
3	95	87	w	0,37	0,23					Medikamentenspiegel-Bestimmung Zolpidem
18	134	85	m	nicht untersucht	2,47				Clobazam (0,3)	Unklare Intoxikation, ev. Benzodiazepine
16	143	56	w			0,93	<0,001			Verdacht auf Intoxikation
6	152	83	m			0,004	bestätigt		Diazepam/Nordazepam (0,07), Carbamazepin (11,6)	Verdacht auf unkontrollierte Tabletteneinnahme bei Depression
10	155	57	m			0,51	bestätigt		Olanzapin (0,03)	Mischintoxikation in suizidaler Absicht
11	156	57	m			0,21	bestätigt			Verlaufskontrolle Zopiclon von Proben-Nr. 155
12	157	51	w			0,26	bestätigt		Diazepam (2,5) Lorazepam (1,4) Nordazepam (0,47)	Intoxikation
19	158	74	w	nicht untersucht	0,61				Hydromorphon (0,08)	Verdacht auf Intoxikation
13	161	57	w			0,2	bestätigt		Trimipramin (0,3)	Mischintoxikation
9	162	43	w			7,9	bestätigt		Mirtazapin (0,02)	Zopiclon-Intoxikation und fragliche andere Medikamenteneinnahme
14	163	43	w			0,3	bestätigt			Verlaufskontrolle Zopiclon von Proben-Nr. 162
15	164	85	m			0,87	0,66			Verdacht auf Benzodiazepin-Intoxikation
5	165	85	m			0,09	bestätigt		Benzodiazepine	Verlaufskontrolle Zopiclon von Proben-Nr. 164
8	166	39	w			0,6	0,4	0,50	Benzodiazepine	Verdacht auf Intoxikation mit Zopiclon und Alkohol
7	167	39	w			0,13	0,09		Benzodiazepine	Verlaufskontrolle Zopiclon von Proben-Nr. 166
4	168	66	w	10,9	3,53				Benzodiazepine	Zolpidem-Intoxikation

## Ergebnisse

---

Obgleich nach bisherigen klinischen Erfahrungen selbst hochgradige Überdosierungen intensivmedizinisch relativ gut beherrschbar sind, ist bei Vorliegen von Mischintoxikationen mit anderen zentralwirksamen Arzneimitteln oder Alkohol mit z.T. sehr schweren Intoxikationen zu rechnen.

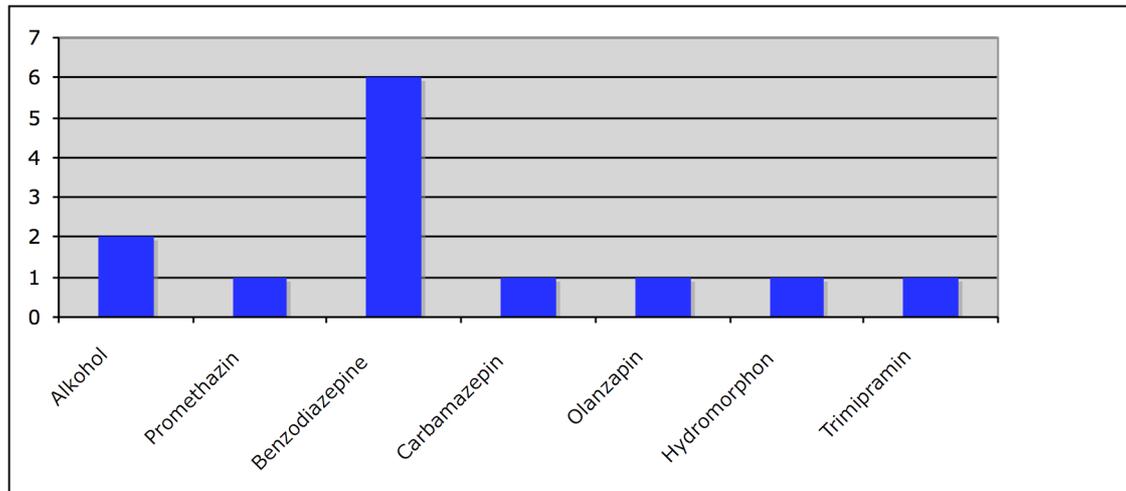
Zusammengefasst lässt sich die Anzahl der detektierten Zopiclon- und Zolpidem-Fälle wie folgt darstellen:

**Tabelle 8: Anzahl der Zopiclon- und Zolpidem-Fälle**

	anamnestisch bekannt	in Erstuntersuchung detektiert	in LC-MS-Nachuntersuchung detektiert
<b>Zolpidem</b>	3 (+ 1 Verlaufskontrolle)	4	7
<b>Zopiclon</b>	8 (+ 3 Verlaufskontrollen)	8 (+ 4 Verlaufskontrollen)	8 (+ 4 Verlaufskontrollen)
<b>gesamt</b>	15	16	19

### 4.2.4 Untersuchung auf weitere Substanzen

Die Untersuchung auf weitere Substanzen ergab, dass nur in drei Fällen reine Monointoxikationen mit den Z-Drugs vorlagen (Tab. 7). Die Analyse auf zusätzliche, für die Intoxikationen mitverantwortliche Substanzen zeigt die Abb. 7:



**Abbildung 7: Zusätzliche, für die Intoxikationen mit Z-Drugs mitverantwortliche Substanzen**

Blauer Abschnitt = für die Intoxikationen mitverantwortliche Substanzen

Die bei weitem häufigste Kombination stellten die Benzodiazepine dar. Im Fall 6 und 12 hätten die gemessenen Konzentrationen der zusätzlichen Arzneimittel per se bereits eine Intoxikation hervorgerufen (Tab. 7). Hauptursache für die Intoxikationen waren die Z-Drugs.

### 4.2.5 Quantifizierung von Zolpidem und Zopiclon

Die Werte der Serumkonzentrationen von Zopiclon ergaben eine Spannweite von 0,004 bis 7,9 µg/ml. Werte über 0,2 µg/ml liegen im toxischen, über 0,6 µg/ml im wohl komatös-letalen Konzentrationsbereich. Die Fälle 5, 7, 11, 14 waren Analysen des Konzentrationszeit-Verlaufs einer schon bekannten Intoxikation (Tab. 7).

Die in der retrospektiven Untersuchung entdeckten drei weiteren positiven Zolpidem-Proben ergaben folgende quantitative Ergebnisse:

**Tabelle 9: Serumkonzentrationen der positiven Zolpidemfälle in der retrospektiven Untersuchung mittels LC-MS**

Fall-Nr.	Untersuchung mittels LC-MS (µg/ml)
17	0,03
18	2,47
19	0,61

Ein exemplarischer Vergleich bei fünf Proben nach den üblichen Methoden der routinemäßigen Erstuntersuchung ergab folgende quantitative Werte in toxikologischer Erstuntersuchung und nachfolgender Analytik mittels LC-MS:

**Tabelle 10: Vergleich der gemessenen Serumkonzentrationen bei der Erstuntersuchung (GC-TSD) und der Nachuntersuchung (LC-MS)**

Fall-Nr.	Wirkstoff	Toxikologische Erstuntersuchung (µg/ml)	LC-MS-Nachuntersuchung (µg/ml)	Diskrepanz der quantitativen Werte (µg/ml)	Diskrepanz in %
1	Zolpidem	0,3	0,15	0,15	50
2	Zolpidem	1,3	0,93	0,37	29
7	Zopiclon	0,13	0,09	0,04	31
8	Zopiclon	0,6	0,4	0,2	33
15	Zopiclon	0,87	0,66	0,21	24

Bei den in Tabelle 10 mittels LC-MS exemplarisch nachuntersuchten Proben wurden im Vergleich zur toxikologischen Erstuntersuchung geringere quantitative Werte ermittelt. In den fünf Vergleichs-Proben lag die Diskrepanz zwischen 24 und 50%.

## 4.2.6 Patientenkollektiv bezogen auf Zolpidem-/Zopiclon-Einnahme

### 4.2.6.1 Zopiclon-Einnahme

**Tabelle 11: Auflistung der Zopiclon-Einnahme hinsichtlich Geschlechterverteilung, Alter, Indikation und Einnahme sonstiger Wirkstoffe**

Zopiclon	m	w
Anzahl (n)	3 + 2 VK	5 + 2 VK
Alter (Jahre)	57-85	39-57
<b>Indikation</b>		
Intoxikation allgemein	0	2
Medikamenten-Intoxikation	2	1
Alkohol + Medikamenten-Intoxikation	0	1
Suizidversuch + Mischintoxikation	1	0
Verlaufskontrolle	2	2
Mischintoxikation	0	1
Kombination mit:		
Benzodiazepinen + Alkohol	0	1
Benzodiazepinen	2	1
Benzodiazepinen + Sonstige Medikamente	0	0
Psychopharmaka	1	2
Sonstigen Medikamenten	0	0

VK = Verlaufskontrolle; m = männlich; w = weiblich

Bei den insgesamt acht positiven Zopiclon-Fällen handelte es sich insgesamt sechsmal um Intoxikationen (Tabelle 7, 8 und 11): Es waren insgesamt zwei männliche Patienten intoxikiert, und zweimal wurde eine Verlaufskontrolle durchgeführt (Serumkonzentration: 0,21 µg/ml, 0,51 µg/ml (in Kombination mit 0,03 µg/ml Olanzapin) und 0,66 µg/ml). Bei den Frauen wurden fünf Intoxikationen mit folgenden Zopiclon-Serumkonzentration nachgewiesen: 0,2 µg/ml (in Kombination mit 0,3 µg/ml Trimipramin), 0,26 µg/ml (in Verbindung mit 2,5 µg/ml Diazepam, 1,4 µg/ml Lorazepam und 0,47 µg/ml Nordazepam), 0,6µg/ml (in Kombination mit immunologisch nachgewiesenen Benzodiazepinen und Alkohol 0,5‰), 0,93 µg/ml und 7,9 µg/ml (d.h. im potentiell komatös-letalen Bereich und kombiniert mit 0,02 µg/ml Mirtazapin). In einem Fall wurde eine Verlaufskontrolle durchgeführt (0,3 µg/ml), womit insgesamt vier Frauen mit Zopiclon intoxikiert waren.

## 4.2.6.2 Zolpidem-Einnahme

**Tabelle 12: Auflistung der Zolpidem-Einnahme hinsichtlich Geschlechterverteilung, Alter, Indikation und Einnahme weiterer Wirkstoffe**

Zolpidem	m	w
Anzahl	3	4
Alter	40-85	21-87
<b>Indikation</b>		
Intoxikation allgemein	1	1
Medikamenten-Intoxikation	0	1
Trauma	1	0
Alkohol + Medikamenten-Intoxikation	1	0
Suizidversuch + Medikamenten-Intoxikation	0	1
Medikamenten-Konzentration-Bestimmung	0	1
<b>Kombination mit</b>		
Alkohol	1	0
Benzodiazepinen	1	1
Benzodiazepinen + Psychopharmaka	1	0
Psychopharmaka	0	1
Sonstigen Medikamenten	0	1

m = männlich, w = weiblich

Bei den insgesamt sieben Zolpidemfällen (Tab. 12) handelte es sich fünfmal um Intoxikationen. Drei Frauen waren intoxikiert, eine im komatös-letalen Bereich (3,53 µg/ml, kombiniert mit immunologisch bestimmten Benzodiazepinen) und zwei im toxischen Bereich (einmal 0,23 µg/ml und einmal 0,61 µg/ml, kombiniert mit sonstigen Medikamenten, d.h. in diesem Fall 0,08 µg/ml Hydromorphon). Zwei Männer waren ebenfalls intoxikiert, einer im komatös-letalen (2,47 µg/ml) und einer im toxischen (0,93 µg/ml) Bereich (Einstufung nach Schulz und Schmoldt 2003) (s. auch Tabelle 7 und 8).

### **4.2.7 Benzodiazepine in Kombination mit Zolpidem-/Zopiclon-Einnahme**

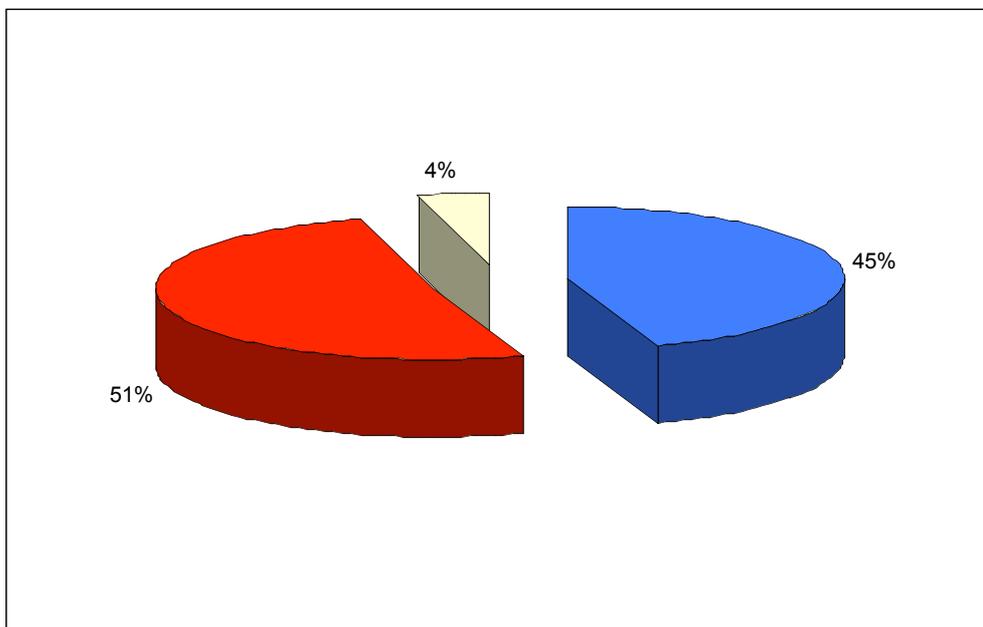
Zolpidem wurde in drei Fällen gemeinsam mit Benzodiazepinen eingenommen. Hierbei handelte es sich einmal um Clobazam (0,3 µg/ml) und einmal um immunologisch nachgewiesene, nicht näher bestimmte Benzodiazepine. In einem Fall wurden nicht näher bestimmte Benzodiazepine mit immunologisch nachgewiesenen, nicht näher bestimmten Psychopharmaka kombiniert (s. Tab. 7 und 12).

Bei Zopiclon konnte in drei Fällen eine mit Benzodiazepinen kombinierte Einnahme festgestellt werden. In einem Fall handelte es sich um Diazepam (0,07 µg/ml, kombiniert mit dem Antiepileptikum Carbamazepin in einer toxischen Konzentration von 11,6 µg/ml), in dem anderen Fall konnten Diazepam (2,5 µg/ml) und sein Metabolit Nordazepam (0,47 µg/ml) plus Lorazepam (1,4 µg/ml) detektiert werden. Einmal wurde Zopiclon in Kombination mit immunologisch bestimmten Benzodiazepinen in Kombination mit Alkohol (0,5‰) nachgewiesen (s. Tab. 7 und 11).

### 4.3 Patientenkollektiv

#### 4.3.1 Soziodemographische Angaben zu Alter und Geschlecht des untersuchten Patientenkollektivs

Das hier untersuchte Patientenkollektiv setzte sich aus 77 (45%) Männern und 88 (51%) Frauen zusammen. Bei sieben (4%) Proben waren keine weiteren Angaben zur Person vorhanden (s. Abb. 8).



**Abbildung 8: Geschlechtsverteilung des untersuchten Patientenkollektivs in Prozent**

Roter Abschnitt = weiblich; blauer Abschnitt = männlich; gelber Abschnitt = nicht bekannt

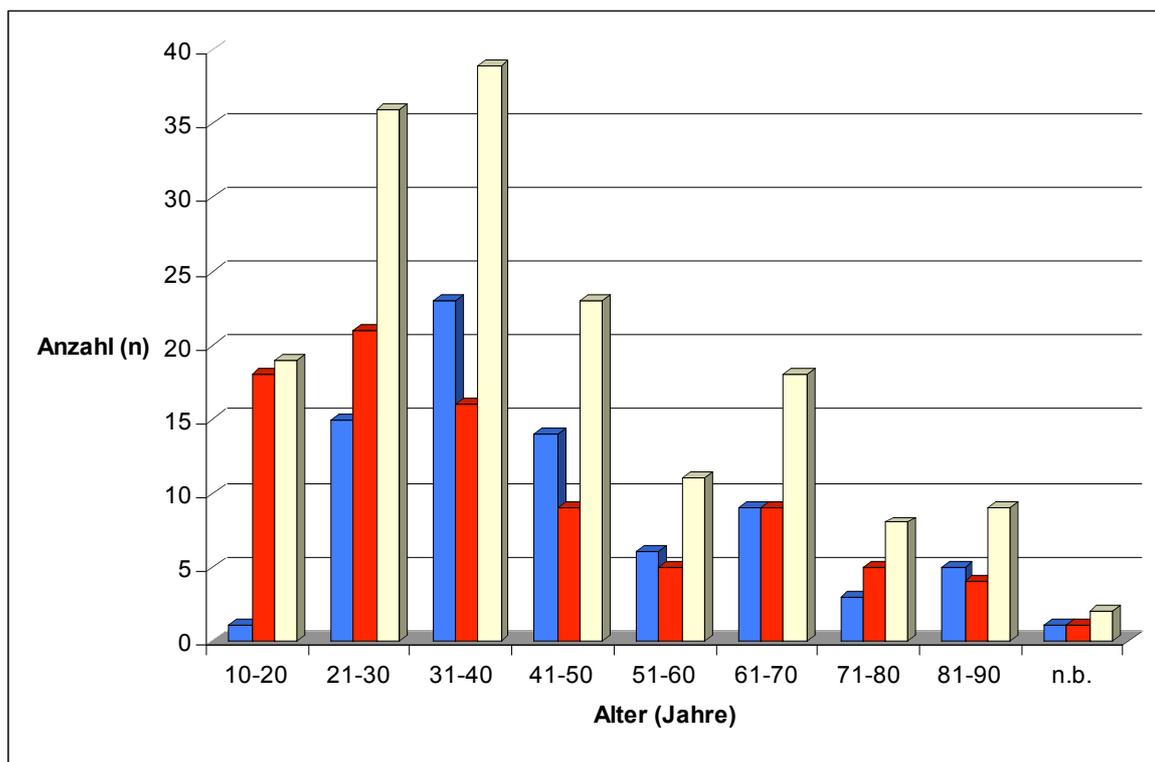
Die Altersverteilung bezog sich auf eine Altersspanne von 13 bis 88 Jahre (bei den Männern 19 bis 85 Jahre, bei den Frauen 13 bis 88 Jahre), der Mittelwert aller Patienten betrug 41,5 Jahre, der Median 39 Jahre (s. Tab. 13).

In der Aufschlüsselung der Altersklassen in Bezug auf das Geschlecht zeigte sich die folgende Verteilung:

**Tabelle 13: Altersverteilung des untersuchten Patientenkollektivs**

Alter (Jahre)	männlich	weiblich	gesamt
<b>Mittelwert</b>	44,6	39,1	41,5
<b>Median</b>	40,0	37,0	39

Die Geschlechter-getrennte Darstellung zeigt, dass Frauen in der Altersgruppe der 10- bis 20-jährigen mit 18 Fällen von allen (10%) überproportional hoch vertreten sind. Bei den Männern ist dies in der Altersklasse 31 bis 40 Jahre der Fall (s. Abb. 9).



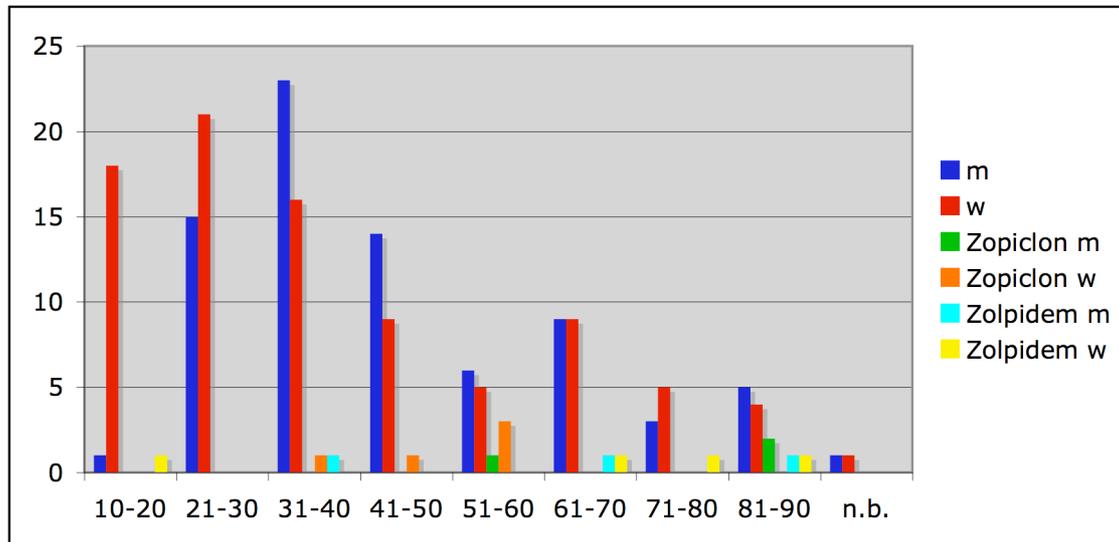
**Abbildung 9: Altersverteilung im untersuchten Patientenkollektiv**

**(Anzahl = n), nach Altersgruppen (in Jahren) und Geschlecht geordnet**

Rote Säulen = weiblich; blaue Säulen = männlich; gelbe Säulen = gesamt (n)

## Ergebnisse

In der Altersverteilung der intoxikierten Patienten fällt auf, dass die Intoxikationen mit Zopiclon und Zolpidem vornehmlich bei älteren Patienten auftraten (s. Abb. 10).



**Abbildung 10: Altersverteilung der Zopiclon- und Zolpidemintoxikationen (Anzahl = n), nach Altersgruppen (in Jahren) und Geschlecht geordnet**

Rot = weiblich; blau = männlich; gelb = Zolpidemintoxikation bei den Frauen; grün = Zopiclonintoxikationen bei den Männern; orange = Zopiclonintoxikationen bei den Frauen; türkis = Zolpidemintoxikationen bei den Männern)

### 4.3.2 Angaben zur Anforderung der Untersuchungen

Bei der Anforderung zur Untersuchung wurden die in Tabelle 14 zusammengestellten Diagnosen bzw. Fragestellungen teils erweitert mit anamnestischen Angaben (wie z.B. Trauma) angegeben. Etwa ein Drittel betraf Verdachtsdiagnosen für Intoxikationen. Dabei handelte es sich um solche mit Medikamenten, um Mischintoxikationen (z.B. mit Alkohol in Verbindung mit Benzodiazepinen) und nicht näher beschriebene Intoxikationen.

**Tabelle 14: Zusammenstellung der Verdachtsdiagnosen mit anamnestischen Angaben bezogen auf die Anforderungen zur Untersuchung von Serumproben beim Tox-Screening**

Fragestellung / Verdacht auf / anamnestische Angaben	Anzahl (n)	davon	Anteil in % von allen
Intoxikation allgemein	22		12,8
Medikamenten-Intoxikation gesamt	27		15,7
• nnb		15	
• Barbiturate		2	
• Benzodiazepine		4	
• Antidepressiva		3	
• Neuroleptika		1	
• Zopiclon		1	
• Zolpidem		1	
Trauma allgemein	10		5,8
Alkohol	14		8,1
Alkohol + Medikamente	8		4,6
Suizidversuch	24		14,0
Bewusstseinsstörung	36		21,0
Psychose	4		2,3
Medikamentenkonzentration-Bestimmung, Verlaufskontrolle, Screening	12		7,0
illegale Drogen	1		0,6
keine Diagnose	2		1,2
Mischintoxikationen	12		7,0
Summe	172		100

nnb = nicht näher bekannt

### 4.3.3 In der Notfallanalytik bestätigte Verdachtsdiagnosen

Nach erfolgter toxikologischer Untersuchung ließen sich bei den insgesamt 172 Verdachtsdiagnosen 95 Intoxikationen nachweisen. In diesen 95 Fällen lag die Konzentration der eingenommenen Wirkstoffe, die zu einer Intoxikation geführt hatten, oberhalb des therapeutischen Bereiches und innerhalb des toxischen Bereiches (Angaben zu Konzentrationen gemäß Schulz und Schmoltdt 2003). Neben den Wirkstoffen in toxischer Konzentration wurden in den meisten Fällen auch zusätzlich andere Substanzen nachgewiesen, deren Konzentrationen sich jedoch im therapeutischen Bereich befanden (s. Tab. 15).

**Tabelle 15: Nachgewiesene für die Intoxikationen verantwortliche Substanzen**

Intoxikation (toxische Konzentration)	Anzahl gesamt (n)	Frauen	Männer	n.b.
Alkohol ( $\geq 0,8\text{‰}$ BAK) gesamt	<b>55</b>	26	26	3
• Alkohol ( $\geq 0,8\text{‰}$ BAK) allein	<b>19</b>	8	10	1
• Alkohol ( $\geq 0,8\text{‰}$ BAK) + andere Wirkstoffe in nicht toxischer Konzentration	<b>27</b>	13	12	2
Alkohol ( $\geq 0,8\text{‰}$ BAK) + Psychopharmaka	<b>5</b>	3	2	
Benzodiazepine + Alkohol ( $\geq 0,8\text{‰}$ BAK)	<b>4</b>	2	2	
Benzodiazepine allein	<b>2</b>	1	1	
Benzodiazepine + Psychopharmaka	<b>2</b>	1	1	
Benzodiazepine + Sonstige Medikamente	<b>2</b>	0	2	
Psychopharmaka	<b>12</b>	9	3	
Sonstige Medikamente (incl. Zolpidem und Zopiclon)	<b>22</b>	12	10	
Summe	<b>95</b>			

BAK = Blutalkoholkonzentration (‰)

In insgesamt 55 Fällen wurde eine Alkoholintoxikation (BAK  $\geq 0,8\text{‰}$ ) nachgewiesen. Dabei waren zehn Männer, acht Frauen und eine weitere Person ohne Geschlechtsangabe mit Alkohol als Einzelsubstanz intoxikiert. In neun Fällen wurde Alkohol (BAK  $\geq 0,8\text{‰}$ ) kombiniert mit anderen Substanzen in toxischer Dosis eingenommen (in fünf Fällen in Kombination mit Psychopharmaka und in vier Fällen in Kombination mit Benzodiazepinen). 27 Personen hatten zusätzlich zum Alkohol andere Wirkstoffe in therapeutischen Dosen eingenommen. Eine alleinige Intoxikation mit Benzodiazepinen kam zweimal vor. Psychopharmaka führten in 12 Fällen zu einer Intoxikation, sonstige Medikamente (inklusive Zopiclon und Zolpidem) in 22 Fällen (s. Tab. 15). Eine ausführliche Darstellung aller untersuchten Substanzen in toxischer und nicht-toxischer Konzentration ist in Tabelle 26 im Anhang (s. S. I) zu finden.

Die folgende Tabelle zeigt die Aufschlüsselung der „sonstigen Intoxikationen“ nach Wirkstoffgruppen.

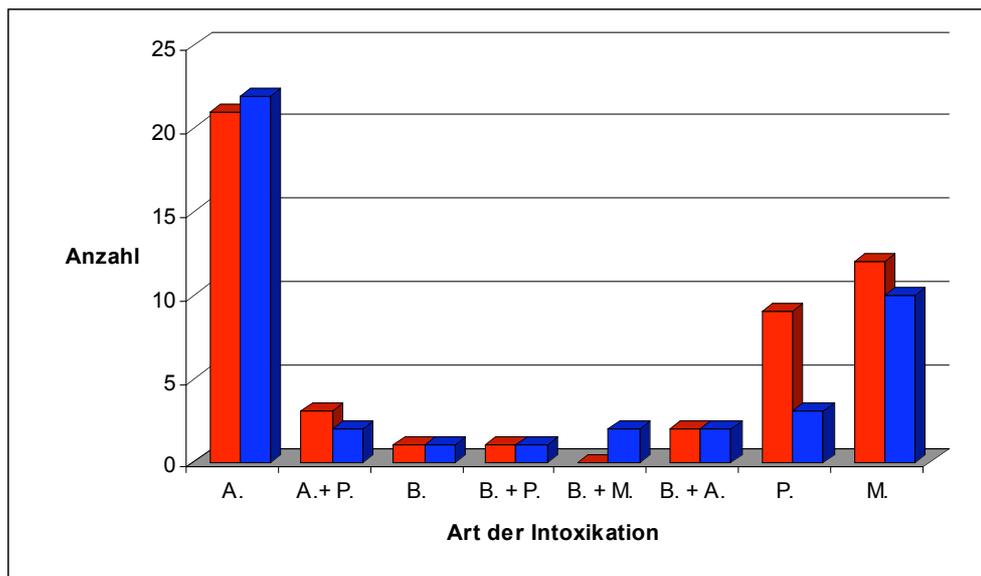
**Tabelle 16: Aufschlüsselung der „sonstigen Intoxikationen“ nach Wirkstoffgruppen und Konzentrationsangaben**

Proben-Nr.	Alter (Jahre)	Sex	Substanz in toxischer Konzentration (µg/ml) oder (‰)	Wirkstoffgruppe
83	88	n.b.	Hydroxycin 0,13	Antihistaminikum
130	44	m	Tramadol 1,3	Opioid-Analgetikum
7	24	w	Metamizol 99,8 Tramadol 4,33	Nicht-Opioid-Analgetikum und Opioid-Analgetikum
1	44	m	Codein 0,73	Antitussivum
66	17	w	Carbamazepin 44,0	Antikonvulsivum
152	83	m	Carbamazepin 11,6	Antikonvulsivum
112	21	m	Olanzapin 3,1 Alkohol 1,8	Neuroleptikum Alkohol
146	30	w	Quetiapin 1,8	Neuroleptikum
144	42	w	Mirtazapin 2,11	Tetracyclisches Antidepressivum
82	39	w	Venlafaxin 1,03 Alkohol 1,9	Antidepressivum (SNRI) Alkohol
41	48	m	Mirtazapin 2,0	Tetracyclisches Antidepressivum
149	51	w	Amitriptylin 0,56	Tricycl. Antidepressivum
40	33	w	Amitriptylin 0,8 Alkohol 1,3	Tricycl. Antidepressivum Alkohol
59	22	w	Amitriptylin 0,81	Tricycl. Antidepressivum
170	28	w	Citalopram 0,5	Antidepressivum (SSRI)
132	27	m	Levomepromazin 0,8 Alkohol 0,9	Neuroleptikum Alkohol
70	23	w	Doxepin 0,76	Tricycl. Antidepressivum
71	23	w	Doxepin 0,78	Tricycl. Antidepressivum
44	34	m	Doxepin 0,87	Tricycl. Antidepressivum
105	26	w	Doxylamin 1,0	Antihistaminikum
65	22	w	Fluoxetin 1,67 Alkohol 1,7	Antidepressivum (SSRI) Alkohol

## Ergebnisse

16	38	w	Haloperidol 0,17	Neuroleptikum
4	66	m	Prothipendyl 1,4	Neuroleptikum
55	37	w	Amisulpirid 6,6 Chlorprothixen 0,44	Neuroleptikum Neuroleptikum
79	35	m	Clomethiazol 2,2	Hypnotikum
57	19	m	Diphenhydramin 2,15	Antihistaminikum
111	27	w	Methadon 0,65 Ecstasy 0,32	Substitutions- medikament Illegale Droge
19	63	w	Methadon 0,68 Opiate 0,68	Substitutions- medikament Drogen / Opiate
81	39	m	Opiate 0,2	Opiate
120	44	m	Opiate 1,075 Diazepam 2,6	Opiate Benzodiazepine
145	42	w	Diazepam 2,6 Mirtazapin 2,11	Benzodiazepine Tetracycl. Antidepressivum
23	48	m	Nordazepam/Dia- zepam 2,4 Mirtazapin 2,0	Benzodiazepine Neuroleptikum
53	40	m	Benzodiazepine > 3,0 Zolpidem 1,3	Benzodiazepine Zolpidem
159	44	m	Bromazepam 2,6 Alkohol 1,90	Benzodiazepine Alkohol
32	61	m	Diazepam/Norda- zepam 2,1	Benzodiazepine
39	35	m	Benzodiazepine 0,44 Alkohol 4,0	Benzodiazepine Alkohol
141	38	w	Diazepam 2,5 Lorazepam 0,47	Benzodiazepine
106	63	w	Bromazepam 0,4 Alkohol 3,7	Benzodiazepine Alkohol
135	24	w	Bromazepam 0,9 Alkohol 1,7	Benzodiazepine Alkohol

Die für die Intoxikationen nachgewiesenen Substanzen wurden von beiden Geschlechtern in etwa zu gleichen Anteilen eingenommen. Eine Ausnahme stellen die Psychopharmaka dar, deren Einnahme bei den Frauen häufiger als bei den Männern vorkam (Abb. 11).



**Abbildung 11: Nachgewiesene für die Intoxikationen verantwortliche Substanzen, bezogen auf das Geschlecht**

Rote Säulen = Frauen; blaue Säulen = Männer; A = Alkohol; B = Benzodiazepine; M = sonstige Medikamente; P = Psychopharmaka

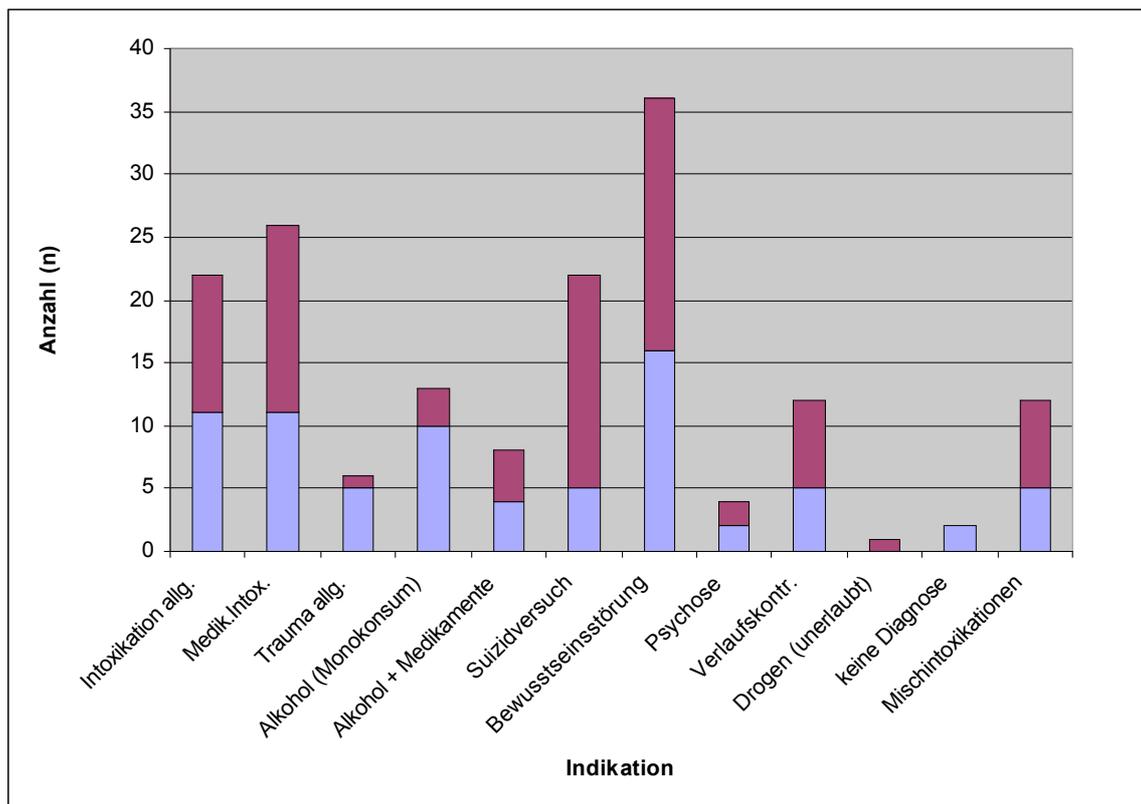
Die folgende Tabelle zeigt eine Darstellung der Intoxikationen mit „sonstigen Medikamenten“, aufgeschlüsselt nach Zopiclon- und Zolpidem-Intoxikationen.

**Tabelle 17: Aufschlüsselung der Intoxikationen mit „sonstigen Medikamenten“ nach Intoxikation mit Zopiclon und Zolpidem**

Intoxikation (toxische Konzentration)	Anzahl gesamt (n)	mit Nachweis von	Anzahl (n)	Frauen	Männer
Zopiclon	6				
		allein	1		1
		+ Psychopharmaka	3	2	1
		+ Alkohol			
		+ Benzodiazepine	1	1	
		+ Benzodiazepine	1	1	
Zolpidem	5				
		allein	1	1	
		+ Sonstige Medikamente	1	1	
		+ Benzodiazepine	2	1	1
		+ Benzodiazepine			
		+ Psychopharmaka	1		1
Summe	11				

## 4.3.4 Geschlechts- und Altersverteilung der untersuchten Patienten in Bezug auf die Verdachtsdiagnosen

In Bezug auf die Geschlechtsverteilung verhielt sich die für die Notfall-Analytik gestellte Indikation der einweisenden Ärzte/Ärztinnen wie folgt (Abb. 12 und Tab. 18):



**Abbildung 12: Aufstellung der Anzahl der für die Notfall-Analytik gestellte Indikation in Bezug auf die Geschlechtsverteilung im untersuchten Patientenkollektiv**

Oberer Säulenteil (lila) = Frauen; unterer Säulenteil (hellblau) = Männer

Bei den insgesamt 88 weiblichen Patienten wurde in elf Fällen ein Notfall-Screening aufgrund einer nicht näher eingegrenzten Intoxikation durchgeführt, in 15 Fällen war eine fragliche vorher erfolgte Medikamenten-Intoxikation die Grundlage für die Fragestellung. Bei 20 Patientinnen war eine Bewusstseinsstörung diagnostiziert, allein sechsmal in der Altersgruppe von 10-

## Ergebnisse

---

20 Jahren. Hier war auch der alleinige Konsum von Alkohol mit drei Fällen am häufigsten vertreten. 17 Patientinnen hatten – anamnestisch erfasst - einen Suizidversuch mit Medikamenten unternommen, von denen neun in der Gruppe der 21-30jährigen zu finden waren. Bei den 81-90jährigen imponierte die Medikamenten-Intoxikation mit drei Fällen. Zu Mischintoxikationen kam es in sieben Fällen. Sie betrafen fast alle Altersgruppen (s. Abb. 12 und Tab. 18).

**Tabelle 18: Anzahl der für die Notfall-Analytik gestellte Indikation in Bezug auf die Altersverteilung bei den weiblichen Patienten**

Indikation / Alter (Jahre)	10-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	n gesamt
Intoxikation allg.		3	2	1	3	1	1		11
Medikamenten-Intoxikation gesamt	3	3	3	1		1	1	3	15
Trauma allgemein		1							1
Alkohol	3								3
Alkohol + Medikamente	1	1	2						4
Suizidversuch	2	9	2	3	1				17
Bewusstseinsstörung	6	3	2	2	1	4	2		20
Psychose		1	1						2
Medikamentenkonzentration-Bestimmung, Verlaufskontrolle			3	1		1	1	1	7
illegale Drogen	1								1
keine Diagnose									0
Mischintoxikationen	1	1	1	1	1	2			7

Bei den 77 männlichen Patienten war der alleinige Konsum von Alkohol auffällig. In zehn Fällen wurde die Indikation einer Alkoholvergiftung gestellt, die sich auf die Altersgruppen 21-70 verteilte. Bewusstseinsstörungen kamen insgesamt sechzehnmal vor, allein bei den 31-40jährigen in fünf Fällen. Fünfmal wurden Mischintoxikationen als Fragestellung angegeben, in fünf Fällen wurde ein Trauma (nach Alkohol-Missbrauch) gemeldet. Elf nicht näher beschriebene Intoxikationen und elf Intoxikationen mit Medikamenten wurden angegeben (s. Abb. 12 und Tab. 19).

**Tabelle 19: Anzahl der für die Notfall-Analytik gestellte Indikation in Bezug auf die Altersverteilung bei den männlichen Patienten**

Indikation / Alter (Jahre)	10-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	n gesamt
Intoxikation allgemein		2	5	1	1		1	1	11
Medikamenten-Intoxikation gesamt	1	1	2	2		3		2	11
Trauma allgemein			3			2			5
Alkohol		3	3	1	2	1			10
Alkohol + Medikamente		1	2	1					4
Suizidversuch		1	1	1	1	1			5
Bewusstseinsstörung		3	5	3		2	2	1	16
Psychose		1			1				2
Medikamentenkonzentration-Bestimmung, Verlaufskontrolle				3	1			1	5
illegale Drogen									0
keine Diagnose		1	1				1		3
Mischintoxikationen		2	1	2					5

### 4.3.5 Aufschlüsselung nach angegebenen und indikationsverursachenden Medikamenten

Bei dem Patientenkollektiv wurden als (Dauer-) Medikation eine Vielzahl von Therapeutika angegeben, die jedoch nicht immer Ursache der Intoxikationen waren.

Es wurde berücksichtigt, ob jeweils nur die festgestellte Substanz als Einzelsubstanz oder in Kombination mit weiteren Therapeutika nachgewiesen werden konnte. Die anamnestischen Angaben waren in den meisten Fällen nicht eindeutig auswertbar. Im Rahmen der toxikologischen Erstuntersuchung wurden folgende Wirkstoffe nachgewiesen:

**Tabelle 20: Aufstellung der nachgewiesenen Psychopharmaka**

Psychopharmaka	gesamt	Mono- therapie	in Kombination mit anderen Wirkstoffen
Amitriptylin	9	7	2
Chlorprothixen	1	0	1
Citalopram	1	1	0
Clozapin	1	1	0
Doxepin	8	6	2
Fluoxetin	1	1	0
Haloperidol	1	1	0
Levomepromazin	1	0	1
Mirtazapin	3	1	2
Olanzapin	3	2	1
Pipamperon	1	1	0
Promazin/ Promethazin	3	1	2
Promethazin	1	0	1
Prothipendyl	1	0	1
Quetiapin	1	0	1
TCA* immunologisch positiv	8	8	0
Trimipramin	6	4	2
Venlafaxin	2	0	2
<b>Summe</b>	<b>52</b>	<b>34</b>	<b>18</b>

\*TCA = Tricyclische Antidepressiva

Bei den Psychopharmaka konnten Amitriptylin, Doxepin und Tricyclische Antidepressiva häufiger als andere Psychopharmaka detektiert werden (s. Tab. 20).

Bei den sonstigen Substanzen wurden Cannabis und Opiate am häufigsten nachgewiesen. Auch Zopiclon wurde in elf Fällen, Zolpidem in insgesamt vier Fällen analysiert.

Tabelle 21 gibt einen detaillierten Überblick der bei dem untersuchten Patientenkollektiv gemessenen Substanzen.

**Tabelle 21: Aufstellung der nachgewiesenen sonstigen Substanzen**

Sonstige Substanzen	gesamt	Monotherapie	in Kombination mit anderen Wirkstoffen
Amphetamine	1	0	1
Barbiturate	4	2	2
Cannabis	18	14	4
Carbamazepin	3	2	1
Clomethiazol	1	1	0
Diphenhydramin	2	1	1
Doxylamin	4	2	2
Ecstasy	1	0	1
Hydroxyzin	1	1	0
Ibuprofen	3	3	0
Kokain	5	3	2
Lokal-Anästhetika	4	0	4
Metamizol	5	0	5
Methadon	4	0	4
Metoprolol	1	0	1
Morphin	1	1	0
Opiate	14	4	10
Paracetamol	6	2	4
Propofol	1	0	1
Salicylate	2	1	1
Tramadol	5	2	3
<b>Zolpidem</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>Zopiclon</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Summe</b>	<b>101</b>	<b>46</b>	<b>55</b>

In insgesamt 57 Fällen wurden Benzodiazepine nachgewiesen, entweder allein oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen (n=46) (Psychopharmaka, sonstige Arzneimittel, Alkohol) (s. Tab. 22 und 23).

**Tabelle 22: Aufstellung der nachgewiesenen Benzodiazepine**

Benzodiazepine	gesamt	Monotherapie	in Kombination mit anderen Wirkstoffen
Alprazolam	3	1	2
Bromazepam	4	0	4
Clobazam	2	1	1
Diazepam (incl. seiner Metaboliten Nordazepam, Oxazepam und Temazepam)	19	3	16
Lorazepam	8	1	7
Midazolam	2	0	2
Benzodiazepine n.d.	19	5	14
<b>Summe Benzodiazepine</b>	<b>57</b>	<b>11</b>	<b>46</b>

n.d. = nicht differenziert

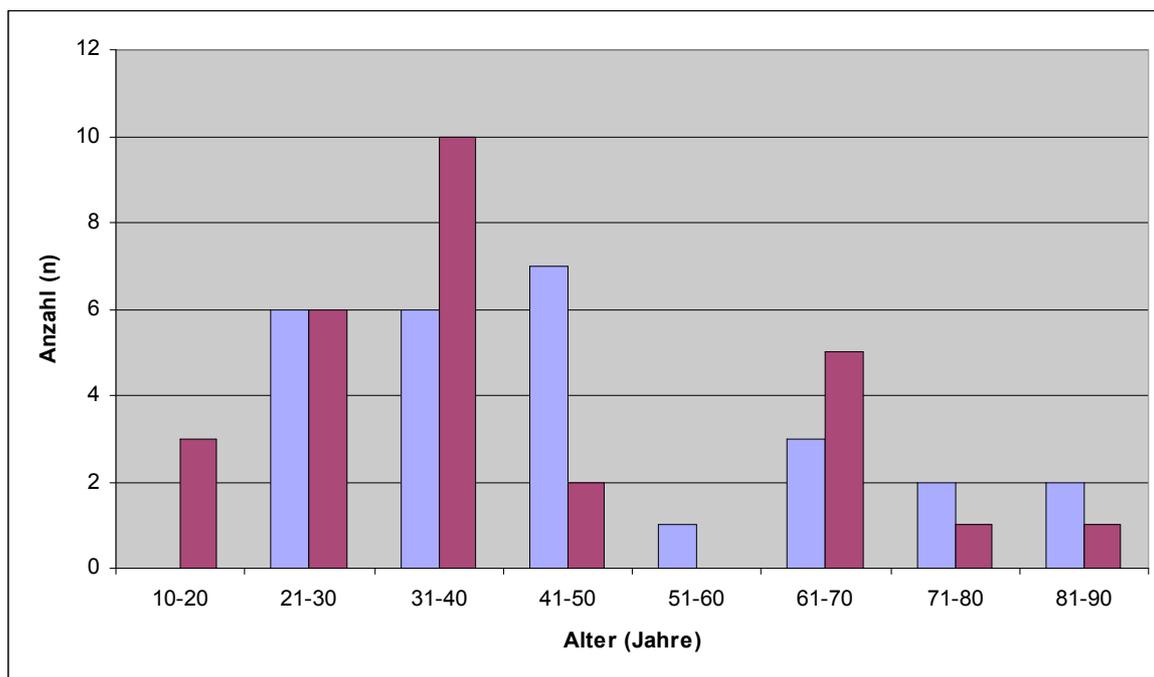
Die analysierten Benzodiazepine wurden keiner pharmakologischen Klasse zugeordnet, da sie sowohl als Psychopharmaka als auch als Hypnotiva und Substitutionsdrogen eingesetzt werden.

**Tabelle 23: Auflistung der Benzodiazepin-Einnahme als Mono- oder Kombinationseinnahme mit anderen Wirkstoffen (Psychopharmaka, Alkohol und/oder sonstigen Medikamenten)**

		Männer	Frauen	n.b.
<b>Benzodiazepine</b>	allein	6	4	1
	+ Psychopharmaka		5	
	+ Sonstige Medikamente	8	4	
	+ Alkohol	4	6	1
	+ Psychopharmaka + Sonstige Medikamente	3		
	+ Psychopharmaka + Sonstige Medikamente + Alkohol	1	4	
	+ Psychopharmaka + Alkohol	2	2	
	+ Sonstige Medikamente + Alkohol	3	3	
<b>Summe</b>		<b>27</b>	<b>28</b>	<b>2</b>

## Ergebnisse

Die Aufschlüsselung nach Benzodiazepin-Einzelsubstanzen ergab, bezogen auf das Geschlecht und Alter, bei den Männern eine Häufung in den jüngeren bis mittleren Altersgruppen mit 20 von 27 Fällen zwischen 21 und 60 Jahren (s. Abb. 13). Es wurden hauptsächlich Diazepam und seine Metaboliten nachgewiesen. In elf Fällen wurde nur immunologisch die Wirkstoffgruppe der Benzodiazepine nachgewiesen und auf eine weitere Differenzierung weisungsgemäß verzichtet.



**Abbildung 13: Angabe der Benzodiazepin-Einnahme in Bezug auf Alter und Geschlecht**

Lila Säule = Frauen; hellblaue Säule = Männer

Bei den Frauen zeigte sich hinsichtlich der Benzodiazepin-Einnahme in Bezug auf das Alter eine Häufung in den jüngeren Altersgruppen (19 von 28 Fälle bei den 10 bis 40jährigen, s. Abb. 13). Auch hier wurden am häufigsten Diazepam und seine Metaboliten nachgewiesen. In acht Fällen war nur ein immunologischer Nachweis der Wirkstoffgruppe der Benzodiazepine erfolgt. Bei 17 Proben, bei denen in der toxikologischen Erstuntersuchung im Immunoassay lediglich Benzodiazepine als Wirkstoffgruppe nachgewiesen wurden, da keine weitere Analytik angefordert war, erfolgte retrospektiv eine

## Ergebnisse

---

zusätzliche Analytik mittels GC-ECD, um die Einzelsubstanzen zu bestimmen (Tab. 24).

**Tabelle 24: Nachträgliche Bestimmung der Benzodiazepin-Einzelsubstanzen aus der Benzodiazepin-Wirkstoffgruppe mittels GC-ECD (zusätzlich über das Screening hinaus)**

Benzodiazepin	Häufigkeit
Bromazepam	1
Diazepam	3
Diazepam und Oxazepam	1
Diazepam und Nordazepam	3
Lorazepam	1
Midazolam	1
Nordazepam	1
keine Identifizierung	6

### 4.3.6 Angaben zum Alkohol-Konsum

In dem vorliegenden Patientenkollektiv hatten 41,6% der Männer (n=32) und 37,5% der Frauen (n=33) Alkohol konsumiert (s. Tab. 25). Es wurde eine Blutalkoholkonzentration von im Mittel 2,0‰ erfasst, wobei die Blutalkoholkonzentrationen zwischen 0,3‰ und 4,6‰ lagen.

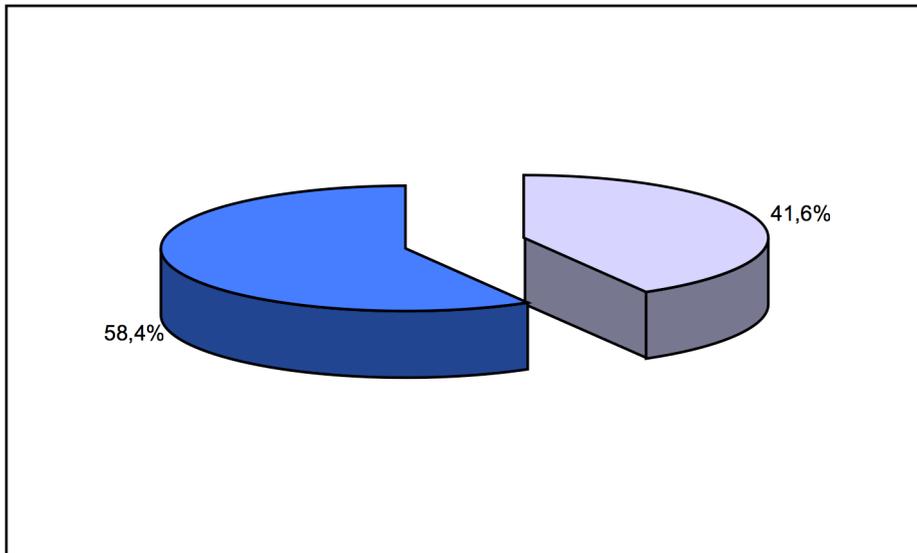
**Tabelle 25: Aufschlüsselung des Patientenkollektivs mit Alkoholkonsum**

	Alkohol ja	Alkohol nein	gesamt
<b>Männer insgesamt</b>	32	45	77
<b>Anteil (%) Männer</b>	41,6	58,4	100,0
<b>Anteil (%) von allen</b>	18,6	26,2	44,8
<b>Frauen insgesamt</b>	33	55	88
<b>Anteil (%) Frauen</b>	37,5	62,5	100,0
<b>Anteil (%) von allen</b>	19,2	32,0	51,2
<b>unbekannt (n)</b>	4	3	7
<b>Anteil (%) von unbekannt</b>	57,1	42,9	100,0
<b>Anteil (%) von allen</b>	2,3	1,7	4,0

## Ergebnisse

---

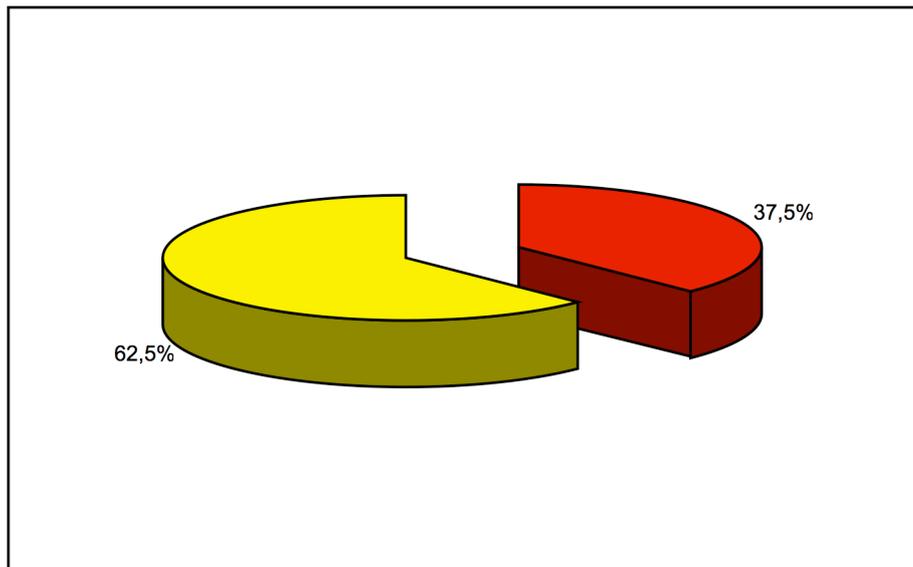
Intoxikiert mit Alkohol (von einer Alkoholintoxikation wird ab 0,8‰ ausgegangen) waren 55 Personen, davon 26 Frauen und 26 Männer, bei drei Personen war das Geschlecht nicht angegeben (s. Tabelle 15).



**Abbildung 14: Anteil der Alkohol-konsumierenden gegenüber den nicht-Alkohol-konsumierenden Männern im Patientenkollektiv in Prozent**

Dunkelblauer Abschnitt = nicht-Alkohol-konsumierende Männer (58,4%); hellblauer Abschnitt = Alkohol-konsumierende Männer (41,6%)

41,6% aller Männer im Patientenkollektiv hatten Alkohol konsumiert, 58,4% nicht. Bei den Frauen zeigte sich ein Alkoholkonsum bei 37,5% aller Patientinnen (Abb. 14 und 15).



**Abbildung 15: Anteil der Alkohol-konsumierenden gegenüber den nicht-Alkohol-konsumierenden Frauen im Patientenkollektiv in Prozent**

Gelber Abschnitt = nicht-Alkohol-konsumierende Frauen (62,5%); roter Abschnitt = Alkohol-konsumierende Frauen (37,5%)

Bei den Alkohol konsumierenden Männern lag der Altersmedian bei 34 Jahren und der Median der nicht Alkohol konsumierenden Männer bei 45 Jahren. Die Frauen mit Alkoholkonsum wiesen einen Median von 38 Jahren auf, die Frauen ohne Alkoholkonsum einen Altersmedian von 37 Jahren.

### 5 Diskussion

#### 5.1 Analysemethoden zum Nachweis von Zolpidem und Zopiclon

In der Literatur werden einige Methoden zur Bestimmung von Zopiclon und Zolpidem beschrieben. Von den klassischen analytischen Verfahren in der Notfallanalytik stehen dabei die High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Methode mit UV-Detektion oder fluorimetrischer Detektion im Vordergrund (Ascalone et al. 1992; Durol und Greenblatt 1997; Ptacek et al. 1997; Ring und Bostick 2000; Wang et al. 1999; Nirogi et al. 2006 a,b). Von Nirogi et al. (2006 a,b) wird eine entsprechend der Vorschriften der FDA („Food and Drug Association“: Amerikanische Zulassungsstelle für Nahrungsmittel und Medikamente) validierte HPLC-Methode mit fluorimetrischer Detektion beschrieben (FDA 2001), die den quantitativen Nachweis von Zolpidem in einer Konzentrationsbreite von 1,8 ng/ml bis 288 ng/ml im Plasma mit einer hohen Sensitivität und Spezifität ermöglicht und sich insbesondere für die Untersuchung von großen Probenserien eignet. Der Nachweis von Zopiclon und Zolpidem mittels Kapillar-Gaschromatographie gekoppelt an einen ECD (electron capture detector) ist ebenfalls versucht worden. Diese Methode erwies sich jedoch meist als nicht linear und benötigt lange Analysezeiten. Die Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) ist bei Zopiclon nicht anwendbar, da die Substanz thermolabil ist. In ihrer Untersuchung konnten Boniface et al. (1992) zeigen, dass Zopiclon in Blutproben unter GC-Bedingungen zerfällt. Zolpidem hingegen kann auch mittels GC-MS analysiert werden.

Seit nunmehr etwa fünf bis sechs Jahren hat die LC-MS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) für die Analytik von Wirkstoffen in biologischen Matrices Eingang in die Routine gefunden und inzwischen eine führende Rolle in der Bioanalytik erlangt. Wesentliche Vorteile dieser Methode sind:

- die Anforderungen an die Extrakte bezüglich Reinheit sind deutlich geringer als z.B. in der GC-MS (Pfuhl 2006),
- meist ist keine Derivatisierung nötig,
- die quantitativen Bestimmungen vieler Analyten können sensitiver, selektiver und mit einer meist einfacheren Probenvorbereitung durchgeführt werden als mit den bisher genutzten Methoden,
- es besteht die Möglichkeit eines höheren Probendurchsatzes aufgrund kurzer Analysenzeiten.

Die LC-MS stellt eine Kopplung der Flüssigkeitschromatographie mit der Massenspektrometrie dar. Die Ionisation der Analytmoleküle findet bei Atmosphärendruck als chemische Ionisation (ACPI) oder als Elektrospray-Ionisation (ESI) statt. Sie ermöglicht daher die Analytik eines sehr großen Spektrums von Verbindungen, die hinsichtlich ihres Molekulargewichtes, ihrer Ionisierbarkeit und Polarität sehr unterschiedlich sind. Prinzipiell sind alle Verbindungen, welche mittels HPLC getrennt werden können, für die LC-MS-Technik geeignet. Hierzu zählen auch Verbindungen mit hohem Molekulargewicht (> 250 Dalton), ionische Verbindungen, ionisierbare Verbindungen sowie polare, nicht ionische (thermolabile) Verbindungen, zu denen z.B. auch Zopiclon gehört. Die Analyse erfolgt unter Umgebungstemperatur, daher erlaubt die LC-MS die Ionisation der großen Mehrzahl medizinisch relevanter Analyten ohne thermische Belastung und ohne vorherige Derivatisierung. Es wird geschätzt, dass lediglich 20% der bis heute bekannten organischen Verbindungen ohne vorherige Derivatisierung mittels GC-MS, jedoch 80% dieser Substanzen mittels LC-MS detektierbar sind (Willoughby et al. 1998).

Allerdings ist die LC-MS aufgrund des synergetischen Effektes von Ionisierungstyp, Probenvorbereitung und Art der Körperflüssigkeit (Urin, Speichel oder Plasma) anfälliger für Matrixeffekte als andere Analysenmethoden (Dams et al. 2003). Matrixeffekte werden als Interferenzen von Matrixbestandteilen definiert, die nicht mit dem Analyten selbst zusammenhängen (FDA 2001). Dies beinhaltet Ionen-Enhancement wie Ionensuppression (teilweise Unterdrückung der Ionisation) gleichermaßen

(Xu et al. 2005). Ionensuppression in der LC-MS kann auftreten, wenn eine coeluiierende Fremdschubstanz die Ionisierung des oder der Analyten in der Ionenquelle unterdrückt. Veränderungen der Tröpfcheneigenschaften in Gegenwart höher konzentrierter, weniger flüchtiger Substanzen (Sulfate, Phosphate, mitgefällter Analyt, leicht ionische Störkomponenten) verursachen die meisten Ionensuppressionen bei der Bestimmung aus biologischen Matrices im ESI-Modus, welcher höher ist als z.B. im APCI-Modus.

Eine Ionensuppression kann

- zu einer schlechten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse
- zur unkorrekten Identifizierung der Analyten und
- zur negativen Beeinflussung der Konzentrationsbestimmung der Analyten führen (Pfuhl 2006).

Maurer (2004) stellte ebenfalls fest, dass bei Untersuchungen mit der ESI-Methode durch Ionensuppression relevante toxische Substanzen übersehen werden können, und auch nach Erkenntnissen von Kratzsch et al. (2004) kann Ionensuppression im ESI-Modus zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Bei der Ursachensuche für die Ionensuppression gelangen Weaver und Riley (2006) der Nachweis einer deutlichen Beeinflussung durch das gleichzeitige Vorhandensein von Polyethylenglycol 400, das nicht nur häufig in den Untersuchungsproben sondern auch in den Probengefäßen vorhanden ist. Müller et al. (2005) beschrieben Ionensuppression bei der LC-MS im ESI-Modus durch gleichzeitig eluierende Matrixinterferenzen. In seinen Untersuchungen zur Bedeutung des Matrixeffektes konnte Heller (2007) darstellen, dass eine Ionensuppression nur dann zu erwarten ist, wenn die Menge der koinjizierten Matrix eine bestimmte Konzentration überschreitet und dass unterhalb einer solchen Konzentration keine signifikante Ergebnisbeeinflussung zu erwarten ist. Bezogen auf die Analyten Zopiclon und Zolpidem fanden Kintz et al. (2005) in einer Untersuchung zur Detektion von Hypnotika aus humanem Speichel mittels LC-MS/MS heraus, dass Ionensuppression bei allen 17 untersuchten Substanzen vorkam und, außer bei Zopiclon, sich geringer als 10% darstellte.

Bhatt et al. (2006) etablierten und validierten eine LC-MS-Methode zum Nachweis der Z-Substanzen aus menschlichem Untersuchungsmaterial.

Wesentliche Parameter dabei waren:

- die Herstellung von Standards von Zolpidem und Escitalopram mit medikamentenfreiem Humanplasma, gespiked mit drei verschiedenen Analyten-Konzentrationen (7.5, 90 und 210 ng/ml) und deren paralleler Einsatz bei jedem Probendurchlauf,
- die Überprüfung der Stabilität der Standards nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur, bei Kühlschranktemperatur und nach Einfrieren bei  $-70^{\circ}\text{C}$  sowie Lagerzeiten von 60 Tagen bei konstanter Probenvorbereitung.

Mit dieser standardisierten Methode konnten die Autoren eine hohe Sensitivität, Selektivität und Wiederfindungsrate von Zolpidem in menschlichem Untersuchungsmaterial erreichen.

Von Stanke et al. (1996) wird auf die Notwendigkeiten von internen Standards hingewiesen und konstatiert, dass aufgrund der verschiedenen Retentionszeiten für Zopiclon und Zolpidem besser zwei verschiedene interne Standards eingesetzt werden sollten (die Autoren benutzten hierfür in ihren Untersuchungen Clonazepam und Alpidem). Diese Ergebnisse bezogen sich auf die gleichzeitige Bestimmung von Zopiclon und Zolpidem aus humanem Plasma mittels Gaschromatografie und Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD). In unseren Untersuchungen wurde die neu etablierte Methode zum Nachweis der beiden Analyten Zopiclon und Zolpidem mittels LC-MS im ESI-Modus eingesetzt, um anhand der Nachuntersuchung von bereits mit anderen Analysemethoden untersuchten Notfallproben das Vorhandensein von Zopiclon und Zolpidem einerseits zu bestätigen und andererseits Proben, die bisher nicht auf diese Analyten untersucht worden waren, auf deren Vorhandensein zu überprüfen.

Während in der Erstuntersuchung zwölf von 172 Proben positiv für Zopiclon und vier von 172 Proben positiv für Zolpidem getestet wurden, ergab die Nachuntersuchung mit der LC-MS-Methode ebenfalls zwölf von 172 Proben positiv für Zopiclon und jedoch sieben von 172 Proben positiv für Zolpidem, d.h.

die Sensitivität konnte für Zolpidem um 42,8% gesteigert werden. Letzteres könnte darin eine Erklärung finden, dass in der toxikologischen Erstuntersuchung aufgrund eines eingeschränkten Untersuchungsauftrages nur zum Teil die Untersuchungen mit GC/MS und teilweise weniger selektiv nur mit GC-NPD-Verfahren durchgeführt werden mussten. Für Zopiclon blieb die Sensitivität hingegen unverändert.

Auffällig ist allerdings, dass die ermittelten quantitativen Werte in der Nachuntersuchung mittels LC-MS von den Werten in der toxikologischen Erstuntersuchung zum Teil deutlich abweichen (s. Tab. 10 im Ergebnisteil). Zur Erklärung der Diskrepanz dieser Werte lassen sich eine Reihe von Aspekten heranziehen: Ein Störfaktor könnte in der fehlenden Stabilität der beiden Hypnotika in Lösungen begründet liegen. Nirogi et al. (2006 a,b) konnten allerdings für Zopiclon und Zolpidem eine Stabilität in menschlichem Plasma nach Lagerung über sechs Monate bei 4°C, bei -50°C über mindestens 30 Tage und auch bei 24 Stunden Aufbewahrung bei Zimmertemperatur im Autosampler belegen, so dass von einer ausreichenden Stabilität ausgegangen werden könnte. Die in dieser Studie festgestellte Präzision betrug für Zolpidem zwischen 93,7% und 103,3% abhängig von der Lagerungsdauer und – art der Probe. Bei Zopiclon lagen die Präzisionswerte entsprechend bei 92,4% und 108,8%.

Diese Stabilität scheint für Zopiclon jedoch nach Galloway et al. in nucleophilen Lösungsmitteln nicht vorhanden zu sein (Galloway et al. 1999). Ein mögliches Stabilitätsproblem über längere Zeit ist jedoch in der Notfall-Analytik zu vernachlässigen, da die Proben zeitnah nach Gewinnung analysiert werden. Allerdings spielt der Aspekt der Probenstabilität für forensische Belange eine wesentliche Rolle.

Ein weiterer Faktor ist die Wiederfindungsrate. Der Nachweis und die Quantifizierung von Zopiclon sind problematisch, da es ein höheres Molekulargewicht als die meisten anderen gebräuchlichen Medikamente besitzt und die therapeutischen Serumkonzentrationen im niedrigen Bereich liegen. Ein anderer Punkt betrifft die Interferenz mit anderen Substanzen, z.B. Desmethylmetaboliten oder weiteren Analyten, die dann, wenn sie nicht

hinreichend abgetrennt werden, Einfluss auf die Signalintensität nehmen können und somit eine korrekte Quantifizierung der Analyten Zopiclon und Zolpidem beeinflussen könnten.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit könnte mit dem Vorliegen einer Ionensuppression begründet werden. Zum Ausschluss und zur Einflussnahme dieses Störfaktors sind eine Reihe von Maßnahmen im Testablauf erforderlich, wie beispielsweise

- Einbringung möglichst deuterierter interner Standards,
- Optimierung der Aufbereitungsmethode (z.B. Festphasenextraktion)
- Wechsel der Ionisationsquelle (APCI anstelle von ESI)
- Änderung der Fließmittelzusammensetzung und
- Änderung des pH-Wertes.

Die Ergebnisse und Diskussionspunkte legen nahe, dass trotz der Euphorie, mit der in den letzten Jahren die LC-MS-Methode in die Routineuntersuchungen zur einfachen qualitativen und quantitativen Analyse von Pharmazeutika in Humanplasma eingeführt worden ist, sich über die Zeit und Erfahrung hinweg doch eine Reihe von system- und substanzbedingten Problemen aufgetan haben, die zumindest die häufig postulierte Vereinfachung der Analytik durch diese Methode infrage stellen.

Mit dem Ziel, Kosten zu reduzieren, wird immer häufiger in den Kliniken nur ein immunologisches Screening angefordert, mit dem viele der häufig vertretenen Substanzen (Neuroleptika, Tramadol, Z-Drugs) nicht erfasst werden können. Bezüglich des Nachweises von Zopiclon und Zolpidem aus Notfallproben mittels LC-MS muss auch unter dem Aspekt des derzeitigen geringen Vorkommens dieser Substanzen kritisch hinterfragt werden, ob der Einsatz dieser Methode als Screeningmethode auch bezüglich einer Nutzen/Kosten-Relation (die Anschaffungskosten eines LC-MS-Gerätes liegen ca. viermal so hoch wie für ein GC/MS-Gerät) sinnvoll erscheint, und ob ein eigenständiger immunologischer Assay für diese Substanzen wirklich notwendig ist. Die hohen Intoxikationszahlen hingegen zeigen, dass auf eine weiterführende und umfangreiche Analytik nicht verzichtet werden sollte (Immunoassays sind von

den Kosten her günstig und von den Analysezeiten her auch sehr kurz.) Es kann daher angenommen werden, dass der Einsatz weiterführender Methoden, z.B. die der Massenspektrometrie, für ergänzende und forensisch relevante Fragestellungen erforderlich ist.

### **5.2 Missbrauch und Intoxikation mit Zolpidem und Zopiclon**

Zolpidem und Zopiclon gehören mittlerweile zu den am häufigsten verschriebenen Präparaten bei Ein- und Durchschlafstörungen. Sie haben laut Arzneiverordnungs-Report 2005 inzwischen die klassischen Benzodiazepine überholt (Lohse und Müller-Oerlinghausen 2006). Trotzdem schätzt die Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen (DHS) die Zahl der von Benzodiazepinderivaten abhängigen Menschen auf 1,0-1,1 Millionen bei einer angenommenen Gesamtzahl der Medikamentenabhängigen in Deutschland von 1,3-1,4 Millionen (Quelle: [www.dhs.de](http://www.dhs.de), Stand Februar 2007). Explizite Zahlen für Zolpidem und Zopiclon liegen nicht vor.

Der Giftnotruf Berlin berichtet für das Jahr 2005 über 484 Intoxikationsfälle mit Benzodiazepinen bundesweit, im Vergleich dazu wurden 110 Intoxikationsfälle mit Zolpidem und 158 mit Zopiclon erfasst, das macht nahezu nur die Hälfte der Intoxikationen mit Benzodiazepinen aus. Das Giftinformationszentrum Nord in Göttingen hat für das Jahr 2005 18 schwere, 72 mittlere und 613 als leicht gewertete Intoxikationen mit Benzodiazepinen dokumentiert. Insgesamt belief sich die Gesamtmissbrauchshäufigkeit auf 930 dokumentierte Fälle. Im gleichen Zeitraum fielen 143 Vergiftungen mit Zopiclon und Zolpidem auf. Hierbei handelte es sich um 79 Intoxikationen mit Zopiclon und 64 mit Zolpidem. Eine detaillierte Angabe über die Schwere der Intoxikationen ist nicht dokumentiert.

Ein mögliches Missbrauchsverhalten mit den Benzodiazepinagonisten Zolpidem und Zopiclon wird bislang in der Literatur kontrovers diskutiert. Laut „Zweiter Essener Erklärung“ von 1994 zur Therapie der Opiatabhängigkeit gelten Zolpidem und Zopiclon nach dem damaligen Stand des Wissens als nicht

suchterzeugend (Gastpar und Rösinger 1996). Hoffmann (2005) hingegen schätzt die Abhängigkeitsgefahr von Zolpidem und Zopiclon nicht geringer als bei Benzodiazepinen ein. Reith et al. (2003) haben in ihrer Publikation dokumentiert, dass von den 200 Vergiftungsfällen mit Todesfolge in Neuseeland im Jahre 2001 in 39 Fällen Hypnosedativa, darunter Zopiclon in zwölf Fällen, als Ursache für die Vergiftungen nachgewiesen wurden. Damit stand Zopiclon an sechster Stelle der verantwortlichen Substanzen für Tod nach Vergiftung. Auf der Basis eines Zopiclon-Anteils von 42% aller 1998 verschriebenen Schlafmittel in Norwegen stellten Bramness et al. (1999) aufgrund von Kontrolluntersuchungen bei norwegischen Autofahrern einen deutlich erhöhten Anteil von Zopiclon-positiven Proben fest. Bei 60% von 101 Proben, die einem quantitativen Test auf Zopiclon unterzogen wurden, konnten höhere Konzentrationen nachgewiesen werden als nach Einnahme von therapeutischen Dosen. Die Autoren schlossen aus diesen Ergebnissen auf ein hohes Missbrauchsverhalten in der norwegischen Bevölkerung. Keup (1998) hingegen konstatierte, dass Missbrauch und Abhängigkeit von Zolpidem und Zopiclon zwar vorkommen, die Toxizität und das Missbrauchspotential jedoch geringer seien als bei den Benzodiazepin-Hypnotika. Zu erklären sei dies mit der möglicherweise unterschiedlichen Rezeptor-Bindungskapazität der „Z-Substanzen“. Göder et al. (2001) bestätigten aufgrund epidemiologischer und polysomnographischer Studien, in denen Schlafverhalten umfangreich untersucht wurde, dass für Zolpidem ein, im Vergleich zu Benzodiazepinen jedoch niedrigeres Abhängigkeitsrisiko bestehe. Die Autoren begründen dies mit Erkenntnissen aufgrund neuerer molekularbiologischer Untersuchungsergebnisse: Zolpidem hat im Vergleich zu Benzodiazepinen in therapeutischer Dosis eine fast ausschließliche Affinität für die mit der Schlafförderung assoziierte  $\alpha_1$ -Untereinheit des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors und in höheren Dosen eine zusätzliche niedrigere Affinität für die mit Anxiolyse assoziierten  $\alpha$ -Untereinheiten 2, 3 und 5. Tierexperimentell führte die chronische Zolpidem-Zufuhr im Gehirn von Ratten zur Verminderung der mRNA der GABA<sub>A</sub>-  $\alpha_1$ -Rezeptoruntereinheit, nicht jedoch zu Effekten auf die mRNA-Mengen anderer Rezeptoruntereinheiten, die bei Benzodiazepinen ebenfalls

verändert sind. Ebenso haben tierexperimentelle Studien mit Ratten gezeigt, dass auch Alter, Geschlecht und Alkoholkonsum einen Einfluss auf die Expression der Rezeptoruntereinheiten in einzelnen Hirnregionen haben, was neben Dauer und Dosis der Anwendung relevant für das Abhängigkeitsrisiko sein könnte (Göder et al. 2001).

Wyss (1996) stellte fest, dass akute Monointoxikationen mit Zolpidem bis zu einer Dosis von 0,6 g relativ harmlos verliefen (als therapeutische Dosis werden 0,01-0,02 g empfohlen). In seiner Untersuchung kam es meist nur zu leichten Bewusstseinsstörungen (Somnolenz). Damit war die akute Toxizität von Zolpidem bei Überdosierung deutlich geringer als diejenige der kurzwirksamen Benzodiazepine und machte im Allgemeinen keine spezielle Therapiemaßnahme erforderlich. Hingegen führten bei Kombinationsintoxikationen mit anderen am Zentralnervensystem wirksamen Medikamenten (beispielsweise Benzodiazepine, Antihistaminika, Neuroleptika und Antidepressiva) oder Alkohol bereits relativ niedrige Zolpidemdosen von 0,1-0,15 g zu einem komatösen Zustand, der aber mit Flumazenil antagonisiert werden konnte.

Das Risiko einer schweren Vergiftung mit Koma scheint nach akuter Überdosierung mit Zolpidem bedeutend kleiner zu sein als bei vergleichbaren Dosen mit den Benzodiazepinen Triazolam und Midazolam. Zolpidem kann daher bezüglich seiner akuten Toxizität nicht den kurzwirksamen Benzodiazepinen gleichgesetzt werden. Zu dem Ergebnis, dass eine akute Mono-Intoxikation mit Zolpidem im Allgemeinen als eher harmlos einzustufen ist, kommt ebenfalls eine Studie des „Paris Poison Centers“, in der 344 Fälle mit Zolpidem-Einnahmen zwischen 0,01 und 1,4 g analysiert wurden. Zu schwerwiegenden Vergiftungen kam es lediglich nach Einnahme von Zolpidem in Verbindung mit Alkohol und psychotropen Drogen (Garnier et al. 1994).

In einer anderen Untersuchung wurde dargestellt, dass Zolpidem bei gleichzeitiger Einnahme die Halbwertszeit von Chlorpromazin (einem mittelstark wirkenden Neuroleptikum) signifikant verlängert, auch wurde ein Todesfall nach einer Überdosierung mit Zolpidem in Kombination mit dem Phenothiazinderivat Acepromazin beschrieben (Tracqui et al. 1993). Mannaert et al. (1996)

dokumentierten einen Fall, bei dem ein 31-jähriger Mann nach massiver Einnahme von Zopiclon in der Badewanne ertrunken war. Bramness et al. (2001) beschrieben den Fall einer 72 Jahre alten norwegischen Patientin mit respiratorischer Insuffizienz aufgrund eines kleinzelligen Bronchial-Karzinoms, die nach Einnahme von wahrscheinlich 0,2-0,35 g Zopiclon (= 25 bis 50 Tabletten Zopiclon à 7,5 mg) verstarb. In der nachfolgenden (post mortem) Untersuchung des Blutes wurden außer Zopiclon in einer Konzentration von 1,9 µg/ml keine anderen Wirkstoffe nachgewiesen.

In einer weiteren Untersuchung von Mannaert et al. (1996) wurde dargestellt, dass die kombinierte Einnahme von Zopiclon und dem Benzodiazepin Diazepam (allerdings in einer therapeutischen Dosis) zu einer schwerwiegenden Sedation geführt hatte.

Bei unseren eigenen Untersuchungen wurden 172 Serumproben von Patienten, bei denen routinemäßig ein toxikologisches Screening durchgeführt worden war, mittels der neu etablierten LC-MS-Methode auf das Vorhandensein von Zolpidem und Zopiclon nachuntersucht. In insgesamt zwölf Fällen konnte Zopiclon durch die LC-MS-Methode nachgewiesen und entsprechend der Ergebnisse der Vorversuche bestätigt werden. Dabei ergab sich das folgende Bild: Zwei Proben lagen im potentiell komatös-letalen, sechs Proben im toxischen und vier Proben im therapeutischen Konzentrations-Bereich. Zu beachten ist, dass es hierbei insgesamt vier Verlaufskontrollen durchgeführt wurden, was die Anzahl der Zopiclon-Einnahmen auf acht und die Anzahl der Zopiclon-Intoxikationen auf sechs reduziert. Die Zopiclon-Einnahme war anamnestisch in elf Fällen bekannt. Bei acht von zwölf Proben lag die Einnahme zusätzlicher Wirkstoffe vor.

Für Zolpidem zeigte sich bei den 172 Serumproben in sieben Fällen ein positiver Nachweis, von denen vier anamnestisch bekannt waren und insgesamt auch vier in der ersten toxikologischen Untersuchung mittels GC/MS detektiert wurden. Bei den sieben für Zolpidem positiven Proben lagen zwei im potentiell komatös-letalen, drei im potentiell toxischen und zwei im therapeutischen Konzentrations-Bereich. Bei sechs von sieben Proben war

gleichzeitig eine Kombination mit anderen Wirkstoffen nachgewiesen worden. Ob dies jedoch eine Auswirkung auf das Koma bzw. die Intoxikation hatte, kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht sicher beurteilt werden. Zu den hier vorgestellten 19 positiv detektierten Zopiclon- und Zolpidem-Fällen gab es keine Angaben zu Somnolenz, Koma oder der Notwendigkeit einer antagonisierenden Flumazenil-Gabe. Nur einmal wurde Alkohol in Verbindung mit Zopiclon konsumiert. Dabei wurde eine Blutalkoholkonzentration von 0,50‰ festgestellt. Zolpidem wurde ebenfalls nur in einem Fall gemeinsam mit Alkohol eingenommen. Die Blutalkoholkonzentration betrug 1,90‰. Eine häufige Kombination der Z-Drugs mit Alkohol und/oder psychotropen Drogen konnte in unserer Untersuchung nicht nachgewiesen werden.

Missbräuchliche Anwendung bis zur Abhängigkeit von Sedativa und Hypnotika treten außer bei Kindern in allen Lebensaltern auf, wobei die zweite Lebenshälfte, zumindest in deutschsprachigen Ländern, überwiegt (Kraus u. Augustin 2001; Maffli 2001). Auffällig ist, dass der Missbrauch von Sedativa und Hypnotika vor allem bei Frauen beschrieben wird, die etwa zwei Drittel der Betroffenen ausmachen (Poser und Poser 1996; Kraus und Augustin 2001; Maffli 2001). In den eigenen Untersuchungen konnten diese Zahlen in Bezug auf Benzodiazepine nicht bestätigt werden. Hier fanden sich für ein Patientenkollektiv aus insgesamt 51% Frauen und 45% Männern eine Intoxikation mit Benzodiazepinen und deren Derivaten eine gleichmäßige Geschlechterverteilung von w:m = 51%:49% (28 Frauen und 27 Männer). Bei zwei Personen war das Geschlecht in den soziodemographischen Angaben nicht erwähnt (s. Abb. 11 und 13).

Kretzschmar (2001) konstatierte, dass der Altersgipfel bei Intoxikationen mit Arzneimitteln zwischen dem zweiten und dem dritten Lebensjahrzehnt liege. In den hier durchgeführten Untersuchungen wird dies in etwa bestätigt. Bei den Männern kamen Intoxikationen mit Arzneimitteln am häufigsten in den Altersgruppen zwischen 21 und 50 Jahren vor (s. Tabelle 19). Bei den Frauen dominierten die Arzneimittelvergiftungen bei den 10 – 40jährigen (s. Tabelle 18).

Die genauere Aufschlüsselung nach Einnahme von Benzodiazepin-Einzelsubstanzen, bezogen auf das Geschlecht und Alter, zeigt bei den Männern ebenfalls eine Häufung in den jüngeren bis mittleren Altersgruppen (zwischen 21 und 60 Jahren) mit 20 von 27 Fällen (74,1%). Es wurden hauptsächlich Diazepam und seine Metabolite nachgewiesen. Bei den Frauen zeigt sich hinsichtlich der Benzodiazepin-Einnahme in Bezug auf das Alter eine Häufung in den jüngeren Altersgruppen (bei den 10 bis 40jährigen) in 19 von 28 Fällen (67,9%). Auch hier wurden am häufigsten Diazepam und seine Metabolite nachgewiesen (s. Abb. 13 und Tabelle 23). Dies unterstützt daher nicht die Ergebnisse von Kraus und Augustin, denn im Gegensatz hierzu fielen in unseren Untersuchungen eher Personen in der ersten Lebenshälfte mit einer missbräuchlichen Anwendung von Hypnotika auf.

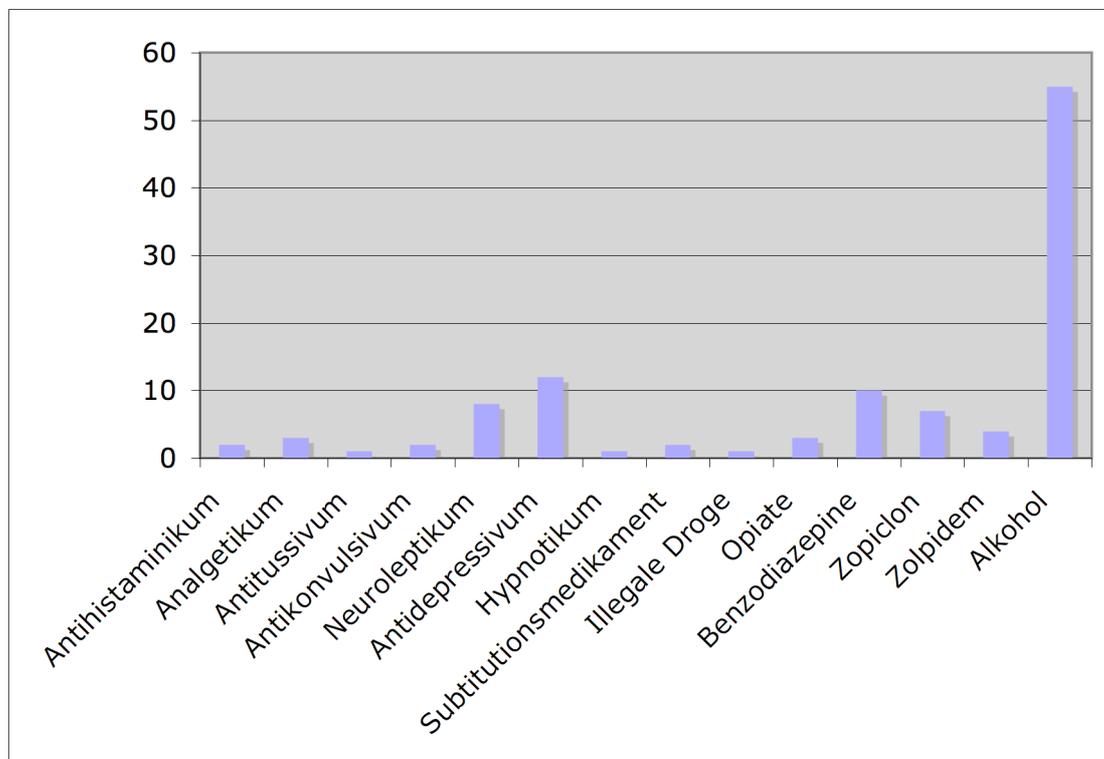
In dem bereits o.g. Case-Report des Paris Poison Center über akute Zolpidem-Vergiftungen wurden 344 Fälle analysiert. 70 Prozent der mit Zolpidem Intoxikierten waren Frauen zwischen 30 und 40 Jahren (Garnier et al. 1994).

In unseren Untersuchungen gelang der Nachweis von Zolpidem bei vier Frauen, die zwischen 21 und 87 Jahren alt waren. Das macht insgesamt 57% der mit Zolpidem-Intoxikierten in unserer Untersuchung aus. Unter Berücksichtigung der niedrigen Fallzahlen in der vorliegenden Studie beläuft sich das Frauen-Männer-Verhältnis in Bezug auf die Zolpidem-Intoxikation auf ca. 1:1.

Ein Nachweis von Zopiclon aus den insgesamt 172 untersuchten Notfallproben konnte bei dem weiblichen Patientenkollektiv sieben Mal erbracht werden. Fünf Frauen im Alter zwischen 39 und 57 Jahren hatten Zopiclon eingenommen, zweimal wurden Verlaufskontrollen durchgeführt. Bei den männlichen Patienten zeigte sich in fünf Fällen eine Einnahme von Zopiclon (hierbei wurden zweimal Verlaufskontrollen durchgeführt). Die männlichen Patienten waren zwischen 57 und 85 Jahre alt. Bei drei Männern wurde Zolpidem nachgewiesen. Sie waren zwischen 40 und 85 Jahre alt (s. Tab. 11 und 12). Insgesamt konnte also eine häufigere Intoxikation bei Frauen als bei Männern bestätigt werden, obwohl dies anhand der kleinen Fallzahlen in unserer Untersuchung nicht sehr aussagekräftig ist.

Trotz der geringen Zahl deutet die Verteilung darauf hin, dass Zolpidem und Zopiclon generell keinen Eingang etwa in die Drogenszene gefunden haben und im hiesigen Einzugsgebiet keine erhebliche Bedeutung für Arzneimittelabhängigkeit besteht.

Die Rolle der Z-Drugs spielt im Vergleich zu anderen zentral wirksamen Substanzen für Intoxikationen gegenwärtig offenbar nur eine untergeordnete Rolle. Die Abbildung 16 zeigt die Fallzahlen der durch andere Substanzgruppen hervorgerufenen Intoxikationen, die Tabelle 16 im Ergebnisteil eine genaue Auflistung der Wirkstoffe:



**Abbildung 16: Zolpidem- / Zopiclon-Intoxikationen in Relation zu Intoxikationen mit anderen Arzneimitteln oder Alkohol**

Bei den in unserer Untersuchung bestätigten Intoxikationen ist ein hoher Anteil an Alkoholvergiftungen auffällig: Insgesamt 55 Personen waren mit Alkohol (BAK  $\geq 0,8\%$ ) intoxikiert (je 26 Frauen und Männer, bei drei Personen war das Geschlecht nicht angegeben), womit dies den Hauptteil der insgesamt 95

Intoxikationen ausmacht (siehe Tab. 15). Jedoch wurde Alkohol nur in zwei Fällen mit Z-Drugs kombiniert, jeweils einmal mit Zopiclon und einmal mit Zolpidem.

Im Vergleich der Benzodiazepine zu den Z-Drugs in unserer Untersuchung zeigen sich folgende Ergebnisse: Hinsichtlich der Z-Drugs wurden in dem vorliegenden Patientenkollektiv in 19 Fällen Zopiclon oder Zolpidem nachgewiesen. Abzüglich vier Verlaufskontrollen, die durchgeführt wurden, hatten insgesamt 15 Patienten Zopiclon oder Zolpidem eingenommen. In insgesamt elf Fällen konnte eine Intoxikation festgestellt werden, sechs Patienten waren mit Zopiclon und fünf Patienten mit Zolpidem intoxikiert (s. Tab. 7). Hingegen konnte in insgesamt 57 Fällen eine Einnahme von Benzodiazepinen nachgewiesen werden, bei zehn Patienten lagen die Konzentrationen der Benzodiazepine im toxischen Bereich (s. Tab. 15).

Im Vergleich zu Zopiclon und Zolpidem wurden die Benzodiazepine dreimal häufiger nachgewiesen (9% vs. 33%), die Anzahl der tatsächlichen Intoxikationen lag jedoch bei den Z-Drugs höher als bei den Benzodiazepinen (11 vs. 10 Fälle). Die Frage, warum Z-Drugs entgegen der Literatur in unseren Untersuchungen weitaus weniger nachgewiesen wurden als die Benzodiazepine, lässt folgende mögliche Hypothesen zu: Eine Möglichkeit wäre, dass Z-Drugs in Hamburg und seinem Umland weniger verschrieben werden als Benzodiazepine. Weiterhin könnten die bei einer Intoxikation auftretenden und vorherrschenden Symptome bei den Z-Drugs weniger schwerwiegend sein als bei den Benzodiazepinen, so dass mit Zolpidem und/oder Zopiclon Intoxikierte weniger häufig als Notfall in einem Krankenhaus vorstellig werden.

In unseren Untersuchungen fällt auf, dass sowohl bei Intoxikationen mit Benzodiazepinen als auch mit den Z-Drugs eine kombinierte Einnahme mit anderen Wirkstoffen wesentlich häufiger nachgewiesen werden konnte als eine Mono-Intoxikation mit den jeweiligen Einzelsubstanzen: Bei den Benzodiazepin-

Einnahmen wurden insgesamt 82% (n = 46) in Kombination mit anderen Substanzen nachgewiesen und nur 18% (n = 11) als singulärer Nachweis (s. Tabelle 22 und 23). Bei Zolpidem verhielt es sich ähnlich: Von insgesamt sieben Einnahmen wurden 86% (n = 6) mit anderen Substanzen kombiniert, in den übrigen 14% (n = 1) allein eingenommen (s. Tabelle 12). Auch bei den acht Zopiclon-Einnahmen wurden mehr kombinierte Einnahmen (58%, n = 7) als die Einzelsubstanz (42%, n = 5) nachgewiesen (s. Tabelle 11). Deshalb sollte bei dem Verdacht auf eine oder dem Nachweis einer Mischintoxikation auch immer an eine Mitwirkung der Z-Drugs oder von Benzodiazepinen gedacht werden, besonders da Mischintoxikationen laut Kretschmar (2001) bezüglich ihrer überadditiven Wirkung äußerst kritisch zu bewerten seien.

Zolpidem und Zopiclon spielen aufgrund unserer Ergebnisse eine durchaus zu beachtende Rolle als Ursache von Intoxikationen, die denen der Benzodiazepine gleichgesetzt werden muss. Obwohl die Anwendungshäufigkeit der Z-Drugs in der Literatur höher als die der Benzodiazepine angegeben wird, konnte eine häufige Einnahme dieser Substanzen als Hinweis für eine potentielle Missbrauchsgefahr durch diese Studie nicht belegt werden. Trotz der scheinbar geringeren Einnahme der Z-Drugs ist deren Intoxikationshäufigkeit jedoch gleichzusetzen mit der der Benzodiazepine.

Die Frage, warum der Nachweis von Z-Drugs auch in unseren Untersuchungen also nicht in der Häufigkeit gelingt wie die Anwendungshäufigkeiten es vermuten lassen, ist nicht abschließend durch diese Studie zu beantworten.

### 5.3 Schlussfolgerungen

Die publizierten hohen Verordnungszahlen von Zolpidem und Zopiclon lassen ebenso wie bei den Benzodiazepinen vergleichbare hohe Missbrauchs- bzw. Intoxikationszahlen erwarten. Die derzeitigen Screening-Methoden ermöglichen allerdings nicht in jedem Fall den Nachweis der sogenannten Z-Drugs.

In unseren Untersuchungen mit ausführlichen Testmethoden mittels LC-MS, die auch den Nachweis von Z-Drugs erbringen, konnte dies nicht bestätigt werden. In dem von uns untersuchten Kollektiv von 172 Notfall-Patientenproben konnten nur in 15 Fällen Zopiclon oder Zolpidem, außerdem bei vier zusätzlichen Verlaufskontrollen, nachgewiesen werden, welches einer deutlichen Unterrepräsentierung einer Intoxikation bei hohen Verordnungszahlen entsprechen würde.

Allerdings waren die Konzentrationen in elf der 15 Fälle einer Intoxikation entsprechend. Damit spielen Intoxikationen mit den Z-Drugs eine durchaus zu beachtende Rolle. Z-Drugs werden seltener nachgewiesen, verursachen jedoch dann fast immer eine Intoxikation.

Im Vergleich dazu waren in diesem Probenkollektiv zehn Patienten mit Benzodiazepinen intoxikiert, aber in insgesamt 57 Fällen konnte eine Einnahme von Benzodiazepinen nachgewiesen werden. Obwohl Benzodiazepine laut Literatur seltener als die Z-Drugs verschrieben werden, scheinen sie immer noch vermehrt eingenommen zu werden, was der häufige Nachweis in den Proben bestätigt.

Die Frage, ob die beiden Benzodiazepin-Agonisten Zopiclon und Zolpidem in Hamburg und Umgebung wenig verordnet werden oder ob aufgrund geringerer Toxizität im Notfall-Patientengut diese Substanzen weniger häufig vorkommen, lässt sich aufgrund des vorliegenden Datenmaterials nicht beantworten.

Diese Ergebnisse zeigen, dass bei dem Verdacht einer Intoxikation als Ursache für eine unklare Bewusstseinslage auf eine umfangreichere Analytik, über ein reines Screening mittels Immunoassay hinaus, nicht verzichtet werden sollte. Weitere Untersuchungen und Trendbeobachtungen zur Häufigkeit einer

Einnahme der Z-Drugs müssen zeigen, ob zukünftig die Etablierung eines eigenständigen immunologischen Assays zum routinemäßigen Screening für Zopiclon und Zolpidem in der Notfallanalytik sinnvoll ist, um schon im Vorfeld entscheiden zu können, ob im vorliegenden Fall eine gezielte Analyse mittels LC-MS vonnöten ist.

### 6 Zusammenfassung

Die Hypno-Sedativa Zolpidem und Zopiclon haben in den letzten Jahren die Benzodiazepine als Spitzenreiter in der Behandlung von Schlafstörungen in Deutschland abgelöst. In der Praxis der klinischen Toxikologie der Rechtsmedizin in Hamburg gibt es bisher nur wenige Hinweise auf Missbrauch und Intoxikationen mit den sog. Z-Drugs. Allerdings liegen keine lückenlosen Daten aufgrund analytischer Untersuchungen vor. Notfallproben werden bei Verdacht auf eine Intoxikation zunächst mit immunologischen Testverfahren auf die häufigsten illegalen Drogen und Medikamentengruppen untersucht. Zopiclon und Zolpidem werden damit allerdings nicht erfasst. Daher wurde eine LC-MS-Methode zum Nachweis von Zolpidem und Zopiclon etabliert und validiert. In 172 Notfall-Serumproben, die mittels LC-MS nachuntersucht wurden, konnten in acht Fällen Zopiclon, in sieben Fällen Zolpidem sowie in 57 Fällen Benzodiazepine nachgewiesen werden. Auffällig ist, dass trotz der geringeren Nachweiszahlen der Z-Drugs die Anzahl der Intoxikationen (elf Intoxikationen bei 15 Nachweisen) bei Zopiclon und Zolpidem höher ist als bei den Benzodiazepinen (zehn Intoxikationen bei 57 Nachweisen). Z-Drugs spielen somit eine durchaus zu beachtende Rolle als Ursache von Intoxikationen: Die Wahrscheinlichkeit einer Vergiftung ist sehr hoch, wenn diese Substanzen erst einmal nachgewiesen worden sind. Ihre Bedeutung ist aber zu diskutieren, da sie in unseren Untersuchungen seltener als erwartet detektiert wurden. Trendbeobachtungen bzgl. der Häufigkeit werden helfen zu entscheiden, ob die Etablierung eines eigenständigen immunologischen Assays als routinemäßige Untersuchung für diese Substanzgruppe sinnvoll wäre. Damit könnte schon im Vorfeld untersucht werden, ob eine weiterführende Analytik mittels LC-MS vonnöten wäre, um eine wahrscheinliche Intoxikation nicht zu übersehen.

## 7 Literaturverzeichnis

Albrecht K (1997) Intensivtherapie akuter Vergiftungen. Ullstein-Mosby-Verlag, Berlin, Wiesbaden

Anonymous (2001) Medical-Statistical Review NDA 20-665:1-16 und 21-283:1-001 Diovan (valsartan) Capsules and Tablets

Anonymus (2005) Anzahl der Monointoxikationen von Zolpidem und Zopiclon anhand der Daten des Giftinformationszentrum (GIZ) Nord, Göttingen 2006

Anonymus (2007) Daten und Fakten: Umsatz der Psychopharmaka. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e.V., Hamm, [www.dhs.de](http://www.dhs.de)

Anonymus (2007) Zopiclon und Zolpidem. In: Die Rote Liste. Rote Liste® Service GmbH Frankfurt/Main, <http://www.rote-liste.de>

Ascalone V, Flaminio L, Guinebault P, Thenot JP, Morselli PL. (1992) Determination of zolpidem, a new sleep-inducing agent, and its metabolites in biological fluids: pharmacokinetics, drug metabolism and overdosing investigations in humans. J Chromatogr 581:237-250

Backhaus J, Müller-Popkes K, Hajak U, Voderholzer U, Venegas M, Hohagen F (1996) Neue Ergebnisse zur Prävalenz von Insomnien und ihrer Behandlung in der Hausarztpraxis. Psycho 22 (9):631-637

Bhatt J, Jangid A, Shetty R, Shah B, Kambli S, Subbaiah G, Singh S. (2006) Quantification of zolpidem in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. Biomed Chromatogr 20:736-742

Boniface PJ, Martin IC, Nolan SL, Tan ST. (1992) Development of a method for the determination of zopiclone in whole blood. J Chromatogr 584:199-206

Bramness JG, Skurtveit S, Morland J. (1999) Zopiklonfunn hos mange bilforere-tegn pa feilbruk og misbruk. Tidsskr Nor Laegeforen 119:2820-2821

Bramness JG, Arnestad M, Karinen R, Hilberg T. (2001) Fatal overdose of zopiclone in an elderly woman with bronchogenic carcinoma. J Forensic Sci

46:1247-1249

Dams R, Huestis MA, Lambert WE, Murphy CM (2003) Matrix effect in bioanalysis of illicit drugs with LC-MS/MS: influence of ionization type, sample preparation, and biofluid. *J Am Soc Mass Spectrom* 14:1290-1294

Durol AL, Greenblatt DJ (1997) Analysis of zolpidem in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to single-dose pharmacokinetic studies. *J Anal Toxicol* 21:388-392

Eichmann U, Kunz D (2007) Medikamentöse Behandlung der Schlaflosigkeit – heute. *Arzneiverordnung in der Praxis* 34 (4):90-92

Galloway JH, Marsh ID, Newton CM, Forrest AR (1999) A method for the rapid detection of the zopiclone degradation product 2-amino-5-chloropyridine. *Sci Justice* 39:253-256

Garnier R, Guerault E, Muzard D, Azoyan P, Chaumet-Riffaud AE, Efthymiou ML (1994) Acute zolpidem poisoning - analysis of 344 cases. *J Toxicol Clin Toxicol* 32:391-404

Gastpar M, Rösinger C (1996) Therapie der Opiatabhängigkeit: Zweite Essener Erklärung. *Deutsches Ärzteblatt* 93:A-249

Giftinformationszentrum (GIZ) Nord der Länder Bremen, Hamburg, Niedersachsen und Schleswig-Holstein. Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen, <http://www.giz-nord.de>

Giftnotruf Berlin. Berliner Betrieb für Zentrale Gesundheitliche Aufgaben, Institut für Toxikologie – Klinische Toxikologie und Giftnotruf Berlin, Invalidenstr. 60, 10557 Berlin, <http://www.bbges.de>

Goa KL, Heel RC (1986) Zopiclone. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as an hypnotic. *Drugs* 32:48-65

Göder R, Treskov V, Burmester J, Aldenhoff JB, Hinze-Selch D (2001) Zolpidem: Zur Entwicklung von Toleranz und Abhängigkeit anhand von Fallberichten, systematischen Studien und aktuellen molekularbiologischen

Daten. Fortschr Neurol Psychiatr 69:592-596

Graham D, Faure C, Besnard F, Langer SZ (1996) Pharmacological profile of benzodiazepine site ligands with recombinant GABAA receptor subtypes. Eur Neuropsychopharmacol 6:119-125

Hajak G, Cluydts R, Allain H, Estivill E, Parrino L, Terzano MG, Walsh JK (2003) The challenge of chronic insomnia: is non-nightly hypnotic treatment a feasible alternative? Eur Psychiatry 18:201-208

Hajak G, Müller WE, Wittchen HU, Pittrow D, Kirch W (2003) Abuse and dependence potential for the non-benzodiazepine hypnotics zolpidem and zopiclone: a review of case reports and epidemiological data. Addiction 98:1371-1378

Hajak, G, Eichhammer P, Rütger E (2005) Schlafmitteltherapie. In: Steinbeck G, Baumgartner G, Brandt T, Göke B, Greten N, Hiddemann W, Lode H, Mann K, Riess H, Risler T, Schattenkirchner M, Seeger W, Wehling M (Hrsg.) Therapie innerer Krankheiten, Springer, Berlin Heidelberg (11. Auflage, pp. 1494-1505)

Heller DN (2007) Ruggedness testing of quantitative atmospheric pressure ionization mass spectrometry methods: the effect of co-injected matrix on matrix effects. Rapid Commun Mass Spectrom 21:644-652

Hoffmann H (2005) Benzodiazepine in der hausärztlichen Praxis. Schleswig-Holsteinisches Ärzteblatt 8:54-56

Hoffmeister H, Wiesner G, Junge B, Kant H (1991) Selbstmordsterblichkeit in der DDR und in der Bundesrepublik Deutschland. In: Helmchen H, Hippus H (Hrsg) Psychiatrie für die Praxis, MMV Medizin, München

Hohagen F, Rink K, Kappler C, Schramm E, Riemann D, Weyerer S, Berger M (1993) Prevalence and treatment of insomnia in general practice. A longitudinal study. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 242:329-336

Itier V, Depoortere H, Scatton B, Avenet P (1996) Zolpidem functionally discriminates subtypes of native GABAA receptors in acutely dissociated rat striatal and cerebellar neurons. Neuropharmacology 35:137-145

- Kaliner B (1995) Zur Epidemiologie von Intoxikationen bei Krankenhausaufnahmen. Ein Vergleich 1985 und 1995. Dissertation FB Medizin. Universität Hamburg
- Kennel S, Kintz P, Tracqui A, Mangin P, Lugnier AA, Chaumont AJ (1990) Identification and quantification in plasma of zopiclone by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *J Chromatogr* 527:169-173
- Keup W (1998) Zolpidem und Zopiclon – Geringes Missbrauchpotenzial im Vergleich zu Benzodiazepin-Hypnotika. *Arzneimitteltherapie* 16:246-254
- Keup W (2004) Zolpidem und Zopiclon. *Arzneimitteltherapie* 22:236-238
- Kintz P, Villain M, Concheiro M, Cirimele V (2005) Screening and confirmatory method for benzodiazepines and hypnotics in oral fluid by LC-MS/MS. *Forensic Sci Int* 150:213-220
- Köppel C (1995) Intoxikationen. In: Madler C, Jauch KW, Werden K (Hrsg) Das NAW-Buch. Urban und Schwarzenberg, München
- Kratzsch C, Tenberken O, Peters FT, Weber AA, Kraemer T, Maurer HH (2004) Screening, library-assisted identification and validated quantification of 23 benzodiazepines, flumazenil, zaleplone, zolpidem and zopiclone in plasma by liquid chromatography/mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *J Mass Spectrom* 39:856-872
- Kraus L, Augustin R (2001) Repräsentativerhebung zum Gebrauch psychoaktiver Substanzen bei Erwachsenen in Deutschland 2000. *Sucht* 47, Sonderheft 1
- Kretzschmar M (2001) Intoxikationen mit schlaffördernden Mitteln. Schwerpunkt Medikamentöse Therapie von Schlafstörungen. *Z Arztl Fortbild Qualitätssich*, Urban und Fischer Verlag 95:45-49
- Langtry HD, Benfield P (1990) Zolpidem. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential. *Drugs* 40:291-313
- Lohse MJ, Müller-Oerlinghausen B (2006) Hypnotika und Sedativa. In: Schwabe U, Paffrath D (Hrsg) *Arzneiverordnungs-Report 2005*, Springer

Medizin Verlag, Heidelberg (Kapitel 30, S. 650-662)

Ludewig R (1999) Akute Vergiftungen. Medizinische Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart

Lüpke NP (2002) Pharmakologische Aspekte der Hypnotika. In: BDA Manual Schlaf. Arbeitskreis zur Erarbeitung eines Stufenschemas zur Diagnostik und Therapie von Schlafstörungen in der hausärztlichen Praxis im Auftrag von und in Zusammenarbeit mit dem BDA, Berufsverband der Allgemeinärzte Deutschlands - Hausärzterverband - e. V. (Hrsg). 1. Auflage Emsdetten 2001, <http://www.ifap.de/bda-manuale/schlaf/index.html>

Maffli E (2001) Einnahmemuster von Schlaf- und Beruhigungsmitteln in der Allgemeinbevölkerung. Schweizerische Ärztezeitung 82:2479 - 2482

Mannaert E, Tytgat J, Daenens P (1996) Detection and quantification of the hypnotic zopiclone, connected with an uncommon case of drowning. Forensic Sci Int 83:67-72

Mannaert E, Tytgat J, Daenens P (1996) Development of a stereospecific radioimmunoassay for the analysis of zopiclone and metabolites in urine. Clin Chim Acta 253:103-115

Maurer Hans H (2004) Position of chromatographic techniques in screening for detection of drugs or poisons in clinical and forensic toxicology and/or doping control. Position of chromatographic techniques in screening for detection of drugs or poisons in clinical and fore. Clin Chem Lab Med 42:1310-1324

Mueller CA, Weinmann W, Dresen S, Schreiber A, Gergov M (2005) Development of a multi-target screening analysis for 301 drugs using a QTrap liquid chromatography/tandem mass spectrometry system and automated library searching. Rapid Commun Mass Spectrom 19:1332-1338

Nirogi RVS, Kandikere VN, Shrivastava W, Mudigonda K (2006) Quantification of zolpidem in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Biomed Chromatogr 20:1103-1108

Nirogi RVS, Kandikere VN, Mudigonda K (2006) Quantification of zopiclone and

- desmethylzopiclone in human plasma by high-performance liquid chromatography using fluorescence detection. *Biomed Chromatogr* 20:794-799
- Peters FT, Hartung M, Herbold M, Schmitt G, Daldrup T, Mußhoff F (2004) Anlage zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. Anhang C: Anforderungen an die Durchführung von Analysen. *T + K* 71 (3):146-151
- Pfuhl P (2006) Entwicklung, Validierung und Anwendung einer LC-MS-Methode zur quantitativen Bestimmung von Niacin und zweier Metaboliten in Humanplasma. Dissertation für Biochemie, Chemie und Pharmazie. Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
- Piot O, Betschart J, Stutzmann JM, Blanchard JC (1990) Cyclopyrrolones, unlike some benzodiazepines, do not induce physical dependence in mice. *Neurosci Lett* 117:140-143
- Poser W, Poser S (1996) *Medikamente - Missbrauch und Abhängigkeit*. Thieme-Verlag, Stuttgart
- Ptacek P, Macek J, Klima J (1997) Rapid and simple method for the determination of zolpidem in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 694:409-413
- Reinbold H (1998) *Benzodiazepine und Nicht-Benzodiazepine: Pharmakologische, pharmakinetische und klinische Aspekte*. PsychoGen-Verlag, Dortmund (4., überarb. Aufl.)
- Reith DM, Fountain J, McDowell R, Tilyard M (2003) Comparison of the fatal toxicity index of zopiclone with benzodiazepines. *J Toxicol Clin Toxicol* 41:975-980
- Ring PR, Bostick JM (2000) Validation of a method for the determination of zolpidem in human plasma using LC with fluorescence detection. *J Pharm Biomed Anal* 22:495-504
- Rüther E, Parnham MJ (1998) The efficacy and safety of zopiclone as an hypnotic. *Rev Contemp Pharmacother* 9:109-121

- Salva P, Costa J (1995) Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of zolpidem. Therapeutic implications. *Clin Pharmacokinet* 29:142-153
- Schulz M, Schmoldt A. (2003) Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics. *Pharmazie* 58:447-474
- Simen S, Hajak G, Schlaf G, Westenhofer J, Rodenbeck A, Bandelow B, Pudiel V, Ruther E (1995) Chronifizierung von Schlafbeschwerden. Ergebnisse einer Repräsentativumfrage in Westdeutschland. *Nervenarzt* 66:686-695
- Soyka M, Bottlender R, Moller HJ (2000) Epidemiological evidence for a low abuse potential of zolpidem. *Pharmacopsychiatry* 33:138-141
- Stanke F, Jourdil N, Bessard J, Bessard G (1996) Simultaneous determination of zolpidem and zopiclone in human plasma by gas chromatography-nitrogen-phosphorus detection. *J Chromatogr B Biomed Appl* 675:43-51
- Tracqui A, Kintz P, Mangin P (1993) A fatality involving two unusual compounds - zolpidem and acepromazine. *Am J Forensic Med Pathol* 14:309-312
- Wang Q, Sun L, Lau CE (1999) Determination of zolpidem in serum microsamples by high-performance liquid chromatography and its application to pharmacokinetics in rats. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 734:299-305
- Weaver R, Riley RJ (2006) Identification and reduction of ion suppression effects on pharmacokinetic parameters by polyethylene glycol 400. *Rapid Commun Mass Spectrom* 20:2559-2564
- Weyerer S, Dilling H (1991) Prevalence and treatment of insomnia in the community: results from the Upper Bavarian Field Study. *Sleep* 14:392-398
- Willoughby R., Sheehan E, Mitrovich S (1998) A Global View of LC/MS. How to solve your most challenging analytical problems. Global View Publishing, Pittsburgh, PA
- Wyss PA, Radovanovic D, Meier-Abt PJ (1996) Akute Überdosierungen mit Zolpidem (Stilnox). *Schweiz Med Wochenschr* 126:750-756
- Xu X, Mei H, Wang S, Zhou Q, Wang G, Broske L, Pena A, Korfmacher WA (2005) A study of common discovery dosing formulation components and their

potential for causing time-dependent matrix effects in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry assays. Rapid Commun Mass Spectrom 19:2643-2650

## 8 Abkürzungsverzeichnis

A	Alkohol
Abb.	Abbildung
AG	Aktiengesellschaft
AK	Allgemeines Krankenhaus
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
B	Benzodiazepine
BAK	Blutalkoholkonzentration
BG	Bestimmungsgrenze
BRD	Bundesrepublik Deutschland
bsp.	Beispielsweise
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
ca.	circa
d.h.	das heißt
DDD	Defined daily doses
DHS	Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen
DIN	Deutsche Industrienorm
ECD	Electron Capture Detection
EEG	Elektroenzephalogramm
ESI	Elektrospray-Ionisation
et al.	et alii
FDA	Food and Drug Association
GABAA	Gamma-Aminobuttersäure (Gamma-Amino-Butter-Acid)
GC NPD	Gaschromatographie mit Stickstoff-Phosphor-selektivem Detektor
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographische Massenspektrometrie
ggf.	gegebenenfalls
GIZ	Giftinformationszentrum
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie

## Abkürzungsverzeichnis

---

HPLC	High Performance Liquid Chromatography
i.d.R.	in der Regel
I.S.	interner Standard
k.A.	keine Angabe
l	Liter
LC-MS	Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie („Liquid Chromatography-Mass Spectrometry“)
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantification
m	männlich
M	Sonstige Medikamente
mg	Milligramm
min	Minuten
Mio.	Millionen
ml	Milliliter
MS	Massenspektrometrie
n	Anzahl (numerus)
n.b.	nicht bekannt
n.d.	nicht differenziert
NG	Nachweisgrenze
ng	Nanogramm
nrb	nicht näher bekannt
o.g.	oben genannte
P	Psychopharmaka
pp	pages
pH	potentia Hydrogenii
QC	Qualitätskontrolle (quality control)
rpm	rounds per minute
RSD	relative Standardabweichung
S.	Seite
s.	siehe
sog.	sogenannte
Tab.	Tabelle
TCA	Tricyclische Antidepressiva
u.a.	unter anderem

## Abkürzungsverzeichnis

---

UKE	Universitäts-Klinikum-Eppendorf
USA	Vereinigte Staaten von Amerika (United States of America)
UV	Ultraviolett
v.a.	vor allem
VK	Verlaufskontrolle
w	weiblich
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
Z-Drugs	Zolpidem und Zopiclon
µg	Mikrogramm

## 9 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

### 9.1 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: THERAPEUTISCHE/TOXISCHE/LETALE PLASMAKONZENTRATIONEN FÜR BENZODIAZEPINE .....	7
TABELLE 2: THERAPEUTISCHE/TOXISCHE/LETALE PLASMAKONZENTRATIONEN FÜR ZOPICLON UND ZOLPIDEM .....	7
TABELLE 3: ANZAHL DER MONOINTOXIKATIONEN VON ZOPICLON UND ZOLPIDEM ANHAND DER DATEN DES GIZ NORD (2005).....	13
TABELLE 4: ANZAHL DER INTOXIKATIONEN VON BENZODIAZEPINEN ANHAND DER DATEN DES GIZ NORD (2005).....	14
TABELLE 5: KALIBRATIONSKURVE FÜR ZOPICLON.....	26
TABELLE 6: KALIBRATIONSKURVE FÜR ZOLPIDEM.....	26
TABELLE 7: GENAUE AUFLISTUNG DER ZOPICLON- UND ZOLPIDEM-FÄLLE MIT ZUSÄTZLICHEM NACHWEIS ANDERER FREMDSTOFFE UND KLINISCHEN ANGABEN .....	34
TABELLE 8: ANZAHL DER ZOPICLON- UND ZOLPIDEM-FÄLLE.....	35
TABELLE 9: SERUMKONZENTRATIONEN DER POSITIVEN ZOLPIDEMFÄLLE IN DER RETROSPEKTIVEN UNTERSUCHUNG MITTELS LC-MS .....	37
TABELLE 10: VERGLEICH DER GEMESSENEN SERUMKONZENTRATIONEN BEI DER ERSTUNTERSUCHUNG (GC-TSD) UND DER NACHUNTERSUCHUNG (LC-MS).....	37
TABELLE 11: AUFLISTUNG DER ZOPICLON-EINNAHME HINSICHTLICH GESCHLECHTERVERTEILUNG, ALTER, INDIKATION UND EINNAHME SONSTIGER WIRKSTOFFE.....	38
TABELLE 12: AUFLISTUNG DER ZOLPIDEM-EINNAHME HINSICHTLICH GESCHLECHTERVERTEILUNG, ALTER, INDIKATION UND EINNAHME WEITERER WIRKSTOFFE.....	39
TABELLE 13: ALTERSVERTEILUNG DES UNTERSUCHTEN PATIENTENKOLLEKTIVS .....	42
TABELLE 14: ZUSAMMENSTELLUNG DER VERDACHTSDIAGNOSEN MIT ANAMNESTISCHEN ANGABEN BEZOGEN AUF DIE ANFORDERUNGEN ZUR UNTERSUCHUNG VON SERUMPROBEN BEIM TOX-SCREENING .....	44
TABELLE 15: NACHGEWIESENE FÜR DIE INTOXIKATIONEN VERANTWORTLICHE SUBSTANZEN.....	45
TABELLE 16: AUFSCHLÜSSELUNG DER „SONSTIGEN INTOXIKATIONEN“ NACH WIRKSTOFFGRUPPEN UND KONZENTRATIONSANGABEN .....	46
TABELLE 17: AUFSCHLÜSSELUNG DER INTOXIKATIONEN MIT „SONSTIGEN MEDIKAMENTEN“ NACH INTOXIKATION MIT ZOPICLON UND ZOLPIDEM .....	48
TABELLE 18: ANZAHL DER FÜR DIE NOTFALL-ANALYTIK GESTELLTE INDIKATION IN BEZUG AUF DIE ALTERSVERTEILUNG BEI DEN WEIBLICHEN PATIENTEN .....	50
TABELLE 19: ANZAHL DER FÜR DIE NOTFALL-ANALYTIK GESTELLTE INDIKATION IN BEZUG AUF DIE ALTERSVERTEILUNG BEI DEN MÄNNLICHEN PATIENTEN.....	51
TABELLE 20: AUFSTELLUNG DER NACHGEWIESENEN PSYCHOPHARMAKA.....	52
TABELLE 21: AUFSTELLUNG DER NACHGEWIESENEN SONSTIGEN SUBSTANZEN.....	53
TABELLE 22: AUFSTELLUNG DER NACHGEWIESENEN BENZODIAZEPINE.....	54
TABELLE 23: AUFLISTUNG DER BENZODIAZEPIN-EINNAHME ALS MONO- ODER KOMBINATIONSEINNAHME MIT ANDEREN WIRKSTOFFEN (PSYCHOPHARMAKA, ALKOHOL UND/ODER SONSTIGEN MEDIKAMENTEN).....	54
TABELLE 24: NACHTRÄGLICHE BESTIMMUNG DER BENZODIAZEPIN-EINZELSUBSTANZEN AUS DER BENZODIAZEPIN-WIRKSTOFFGRUPPE MITTELS GC-ECD (ZUSÄTZLICH ÜBER DAS SCREENING HINAUS).....	56
TABELLE 25: AUFSCHLÜSSELUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVS MIT ALKOHOLKONSUM .....	56
TABELLE 26: AUSFÜHRLICHE DARSTELLUNG DER NACHGEWIESENEN FÜR DIE INTOXIKATIONEN VERANTWORTLICHEN SUBSTANZEN IN VERBINDUNG MIT SUBSTANZEN IN NICHT TOXISCHER (D.H. THERAPEUTISCHER) KONZENTRATION .....	I

## 9.2 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: STRUKTURFORMEL ZOPICLON .....	9
ABBILDUNG 2: STRUKTURFORMEL ZOLPIDEM.....	10
ABBILDUNG 3: UNTERSUCHUNGSABLAUF FÜR NOTFALLPROBEN .....	21
ABBILDUNG 4: ANZAHL DER ZOPICLON- UND ZOLPIDEM-EINNAHME BEKANNT DURCH ANAMNESE .....	31
ABBILDUNG 5: HÄUFIGKEIT DES NACHWEISES VON ZOPICLON UND ZOLPIDEM ANHAND DER TOXIKOLOGISCHEN ERSTUNTERSUCHUNG .....	32
ABBILDUNG 6: ANZAHL DES NACHWEISES VON ZOPICLON UND ZOLPIDEM ANHAND DER RETROSPEKTIVEN LC-MS .....	33
ABBILDUNG 7: ZUSÄTZLICHE, FÜR DIE INTOXIKATIONEN MIT Z-DRUGS MITVERANTWORTLICHE SUBSTANZEN .....	36
ABBILDUNG 8: GESCHLECHTSVERTEILUNG DES UNTERSUCHTEN PATIENTENKOLLEKTIVS IN PROZENT .....	41
ABBILDUNG 9: ALTERSVERTEILUNG IM UNTERSUCHTEN PATIENTENKOLLEKTIV (ANZAHL = N), NACH ALTERSGRUPPEN (IN JAHREN) UND GESCHLECHT GEORDNET .....	41
ABBILDUNG 10: ALTERSVERTEILUNG DER ZOPICLON- UND ZOLPIDEMINTOXIKATIONEN (ANZAHL = N), NACH ALTERSGRUPPEN (IN JAHREN) UND GESCHLECHT GEORDNET .....	42
ABBILDUNG 11: NACHGEWIESENE FÜR DIE INTOXIKATIONEN VERANTWORTLICHE SUBSTANZEN, BEZOGEN AUF DAS GESCHLECHT .....	48
ABBILDUNG 12: AUFSTELLUNG DER ANZAHL DER FÜR DIE NOTFALL-ANALYTIK GESTELLTE INDIKATION IN BEZUG AUF DIE GESCHLECHTSVERTEILUNG IM UNTERSUCHTEN PATIENTENKOLLEKTIV .....	41
ABBILDUNG 13: ANGABE DER BENZODIAZEPIN-EINNAHME IN BEZUG AUF ALTER UND GESCHLECHT .....	54
ABBILDUNG 14: ANTEIL DER ALKOHOL-KONSUMIERENDEN GEGENÜBER DEN NICHT-ALKOHOL- KONSUMIERENDEN MÄNNERN IM PATIENTENKOLLEKTIV IN PROZENT .....	57
ABBILDUNG 15: ANTEIL DER ALKOHOL-KONSUMIERENDEN GEGENÜBER DEN NICHT-ALKOHOL- KONSUMIERENDEN FRAUEN IM PATIENTENKOLLEKTIV IN PROZENT .....	58
ABBILDUNG 16: ZOLPIDEM-/ZOPICLON-INTOXIKATIONEN IN RELATION ZU INTOXIKATIONEN MIT ANDEREN ARZNEIMITTELN ODER ALKOHOL .....	70

### 10 Danksagung

Der Betreuerin meiner Promotionsarbeit, Frau Dr. rer. nat. Hilke Andresen, Forensische Toxikologin GTFCh, Leiterin Arbeitsbereich Toxikologie, Leiterin Abteilung Alkoholologie am Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf möchte ich für die Überlassung des Themas, die allzeit gute Betreuung und die intensive Unterstützung herzlich danken.

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. Achim Schmoldt, Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, danke ich herzlich für die fortwährende konstruktive Kritik und die intensive Überarbeitung der vorliegenden Dissertation.

Herrn Alexander Müller einen ganz herzlichen Dank für die tatkräftige Unterstützung bei der Auswertung der Proben und die geduldige Heranführung an die LC-MS.

Ich danke besonders herzlich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Toxikologie des Institutes für Rechtsmedizin der Universität Hamburg für die durchgehend freundliche Unterstützung und Hilfe und die ausgezeichnete Einarbeitung in das Laborleben.

Meiner Familie gilt ein ganz besonderer Dank für die unermüdliche Motivation und Aufbauarbeit, auch in Zeiten der Resignation. Ohne die grenzenlose und uneingeschränkte Unterstützung meiner Eltern, meiner Schwester, meines Bruders und nicht zuletzt meiner Tochter würde ich jetzt nicht dort stehen, wo ich bin.

## 11 Anhang

### 11.1 Weitere Tabelle

**Tabelle 26: Ausführliche Darstellung der nachgewiesenen für die Intoxikationen verantwortlichen Substanzen in Verbindung mit Substanzen in nicht toxischer (d.h. therapeutischer) Konzentration**

Intoxikation (toxische Konzentration)	mit Nachweis von (in nicht toxischer Konzentration)	Anzahl (n)	Anzahl gesamt (n)	Frauen	Männer	n.b.
Alkohol ( $\geq 0,8\%$ BAK)	allein	19	46	8	10	1
	+ Benzodiazepine	6		2	2	2
	+ Psychopharmaka	5		5		
	+ Sonstige Medikamente	7		2	5	
	+ Benzodiazepine + Neuroleptika	2		1	1	
	+ Benzodiazepine + Sonstige Medikamente	3			3	
	+ Psychopharmaka + Sonstige Medikamente	1			1	
	+ Benzodiazepine + Psychopharmaka + Sonstige Medikamente	3		3		
Alkohol ( $\geq 0,8\%$ BAK) + Psychopharmaka	allein		5			
	+ Sonstige Medikamente	3		1	2	
	+ Benzodiazepine	1		1		
	+ Benzodiazepine + Sonstige Medikamente	1		1		
Benzodiazepine	allein	1	2		1	
	+ Psychopharmaka + Sonstige Medikamente + Alkohol	1		1		
Benzodiazepine + Psychopharmaka	allein	2	2	1	1	
Benzodiazepine + Sonstige Medikamente	allein	1	2		1	
	+ Psychopharmaka	1			1	
Benzodiazepine + Alkohol ( $\geq 0,8\%$ BAK)	allein	3	4	2	1	

## Anhang

	+ Psychopharmaka + Sonstige Medikamente	1			1	
Psychopharmaka	allein	6	<b>12</b>	5	1	
	+ Benzodiazepine	4		3	1	
	+ Benzodiazepine + Alkohol	1			1	
	+ Sonstige Medikamente + Alkohol	1		1		
Sonstige Medikamente (incl. Zolpidem und Zopiclon)	allein	14	<b>22</b>	7	7	
	+ Psychopharmaka	3		2	1	
	+ Benzodiazepine	1		1		
	+ Benzodiazepine + Psychopharmaka	1			1	
	+ Psychopharmaka + Alkohol	1			1	
	+ Benzodiazepine + Alkohol	1		1		
	+ Benzodiazepine + Psychopharmaka + Alkohol	1		1		
Summe			<b>95</b>			

## 11.2 Valistat-Protokolle

### 11.2.1 Validierungsprotokoll zur Bestimmung von Zopiclon mittels LC-MS:

#### Validierungsprotokoll

Seite:	1 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	07.08.06	Methode:	LC/MS

Titel	Bestimmung von Zopiclon mittels LC/MS
ID-Code	MET/ARZ/32

#### Angaben zur Methode

Kurzbezeichnung der Methode (ggf. Nr. der SOP)	Bestimmung von Zopiclon im Blut mittels LC/MS nach flüssig/flüssig-Extraktion
Anwendungsgebiet	Fragestellungen im Bereich der klinischen und forensischen Toxikologie
Arbeitsbereich	0,01 - 0,25 µg/ml
Analyt	Zopiclon
Weitere bestimmbare Analyte	Zolpidem

#### Verantwortlichkeiten

Leiter der Validierung	Dr.rer. nat. H. Andresen
Beteiligte Mitarbeiter	Levke Sonntag, Alexander Müller
Bearbeitungszeitraum	12.10.05-06.04.06
Methode gültig erklärt am	07.08.2006
Methode ungültig erklärt am	
Zusammenfassung und Bewertung	Die Methode erwies sich als linear, präzise und richtig. Aufgrund von Valistat-Programm-bedingten Problemen ist die Varianzhomogenität rein rechnerisch nicht gegeben, da der Arbeitsbereich eine Zehnerpotenz übersteigt.

#### Inhaltsverzeichnis

##### 1. Arbeitsbereich und Kalibrationsmodell

- A. Target
  - A.1 Prüfung auf Varianzhomogenität (F-Test)
  - A.2 Prüfung auf Linearität (Mandel-Test)
- B. Qualifier
  - B.1 Prüfung auf Varianzhomogenität (F-Test)
  - B.2 Prüfung auf Linearität (Mandel-Test)

##### C. Hohe Konzentration (QC3)

- C.1. Wiederholpräzision
- C.2. Laborpräzision
- C.3. Richtigkeit

##### 2. Genauigkeit

- A. Niedrige Konzentration (QC1)
  - A.1. Wiederholpräzision
  - A.2. Laborpräzision
  - A.3. Richtigkeit
- B. Mittlere Konzentration (QC2)
  - B.1. Wiederholpräzision
  - B.2. Laborpräzision
  - B.3. Richtigkeit

##### 3. Grenzwerte

- 3.1. Bestimmung der Nachweisgrenze (schwaches Ion)
- 3.2. Bestimmung der Bestimmungsgrenze (intensives Ion)

##### 4. Wiederfindungsrate (bei Lösungsmittelkalibrationen)

- 4.1. Bestimmung der Wiederfindungsfunktion
- 4.2. Linearitätsprüfung der Wiederfindungsfunktion
- 4.3. Varianzhomogenitätsprüfung der Wiederfindungsfunktion

##### 5. Wiederfindung

- 5.1. Bestimmung der Wiederfindung für niedrige Konzentration
- 5.1. Bestimmung der Wiederfindung für hohe Konzentration

# Validierungsprotokoll

Seite:	2 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	07.08.06	Methode:	LC/MS

## 1. Arbeitsbereich und Kalibrationsmodell

**A. Target**      Messsignal: 389      Messgröße: arearatio      Einheit: µg/ml

	Leerwert	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konzentration	0,00	0,01	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25			
1	0,000	0,079	0,399	0,782	1,319	1,604	1,992			
2	0,000	0,030	0,401	0,869	1,320		2,257			
3	0,000	0,009		0,799	1,220	1,519	2,078			
4	0,000	0,009	0,483	1,484	1,649	2,268	2,728			
5	0,000	0,074	0,460	0,986	1,625	2,132	2,606			
6	0,000	0,118	0,540	1,167	1,942	2,969	3,188			
7										
8										
9										
10										
Mittelwert	0,000	0,053	0,457	1,015	1,513	2,098	2,475			
SD	0,000	0,044	0,059	0,271	0,274	0,585	0,453			
Varianz	0,000	0,002	0,004	0,073	0,075	0,342	0,205			
Werte	6	6	5	6	6	5	6			

Grubbs-Test auf Straggler (Signifikanz: 95%)

Extremwert	0,000	0,118	0,540	1,484	1,942	2,969	3,188			
Prüfwert		1,463	1,403	1,735	1,566	1,489	1,573			
Tabellenwert	1,822	1,822	1,672	1,822	1,822	1,672	1,822			
Straggler?		nein	nein	nein	nein	nein	nein			

Grubbs-Test auf Ausreißer (Signifikanz: 99%)

Tabellenwert	1,944	1,944	1,749	1,944	1,944	1,749	1,944			
Ausreißer?		nein	nein	nein	nein	nein	nein			

F-Test auf Varianzhomogenität (Signifikanz: 99%)

Kalibrator 1 und 6

Prüfwert	105,484
Tabellenwert	10,967
Homogen?	nein

Mandel-Test auf Linearität (Signifikanz: 99%)

Prüfwert	Voraussetzungen nicht erfüllt !
Hinweis	Bitte Bereich einschränken oder gewichtete Regression !

## B. Qualifier

Messsignal: 389      Messgröße: arearatio      Einheit: µg/ml

	Leerwert	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konzentration	0,00	0,01	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25			
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
Mittelwert										
SD										
Varianz										
Werte										

Grubbs-Test auf Straggler (Signifikanz: 95%)

Extremwert										
Prüfwert										
Tabellenwert										
Straggler?										

Grubbs-Test auf Ausreißer (Signifikanz: 99%)

Tabellenwert										
Ausreißer?										

F-Test auf Varianzhomogenität (Signifikanz: 99%)

Kalibrator 1 und 6

Prüfwert	---
Tabellenwert	---
Homogen?	---

Mandel-Test auf Linearität (Signifikanz: 99%)

Prüfwert	---
Hinweis	---

# Validierungsprotokoll

Seite:	3 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	07.08.06	Methode:	LC/MS

2. Genauigkeit

A. Niedrige Konzentration (QC-1): 0,025 µg/ml

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	0,026	0,028	0,012	0,025	0,028	0,026	0,027	0,030		
2	0,022	0,027	0,023	0,028	0,027	0,028	0,030	0,029		
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
Mittelwert	0,024	0,028	0,018	0,027	0,028	0,027	0,029	0,030		
Bias, %	-3,40	10,00	-30,00	6,00	10,00	8,00	14,00	18,00		
SD	0,003	0,001	0,008	0,002	0,001	0,001	0,002	0,001		
RSD, %	10,83	2,57	44,45	8,00	2,57	5,24	7,44	2,40		

Kenndaten		Wiederholpräzision		Laborpräzision		Richtigkeit	
MW (ges.)	0,026	SD	0,003	SD	0,004	Abw.	0,001
SD	0,004	RSD, %	12,14	RSD, %	16,87	Bias, %	4,08
RSD, %	16,60						

B. Mittlere Konzentration (QC-2): 0,00 µg/ml

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
Mittelwert										
Bias, %										
SD										
RSD, %										

Kenndaten		Wiederholpräzision		Laborpräzision		Richtigkeit	
MW (ges.)		SD		SD		Abw.	
SD		RSD, %		RSD, %		Bias, %	
RSD, %							

C. Hohe Konzentration (QC-3): 0,20 µg/ml

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	0,230	0,220	0,220	0,180	0,200	0,190	0,280	0,190		
2	0,190	0,190	0,200	0,190	0,200	0,220	0,220	0,200		
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
Mittelwert	0,210	0,205	0,210	0,185	0,200	0,205	0,250	0,185		
Bias, %	5,00	2,50	5,00	-7,50	0,00	2,50	25,00	-2,50		
SD	0,028	0,021	0,014	0,007	0,000	0,021	0,042	0,007		
RSD, %	13,47	10,35	6,73	3,82	0,00	10,35	16,97	3,83		

Kenndaten		Wiederholpräzision		Laborpräzision		Richtigkeit	
MW (ges.)	0,208	SD	0,022	SD	0,025	Abw.	0,008
SD	0,024	RSD, %	10,50	RSD, %	11,82	Bias, %	3,75
RSD, %	11,74						

# Validierungsprotokoll

Seite:	4 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	07.08.06	Methode:	LC/MS

### 3. Grenzwerte (DIN 32645)

Kalibrator	Target	Qualifier
	389,000000	
	µg/ml	arearatio
1	0,00	0,000
2	0,01	0,053
3	0,05	0,457
4	0,10	1,015
5	0,15	1,513
6	0,20	2,098
7	0,25	2,475
8		
9		
10		

Wertepaare	7	
Messungen	6	
Signifikanz	99,00	%
k-Wert	3,00	

#### Ausreißer-F-Test

Kalibrator Nr.  
Prüfwert  
Kritischer Wert 95%  
Straggler?  
Kritischer Wert 99%  
Ausreißer?

Target	Qualifier
389,000000	
6	
8,690	
7,700	
ja	
21,190	
nein	

#### Linearitäts-Mandel-Test

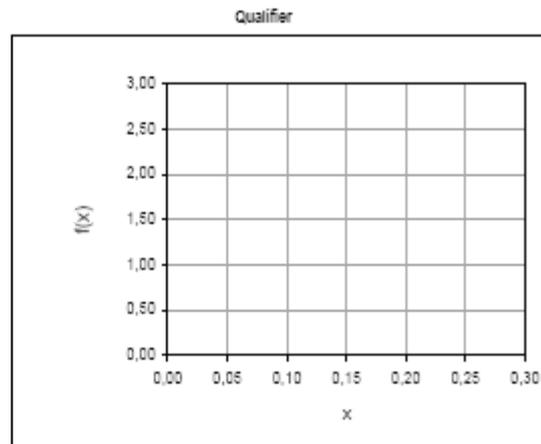
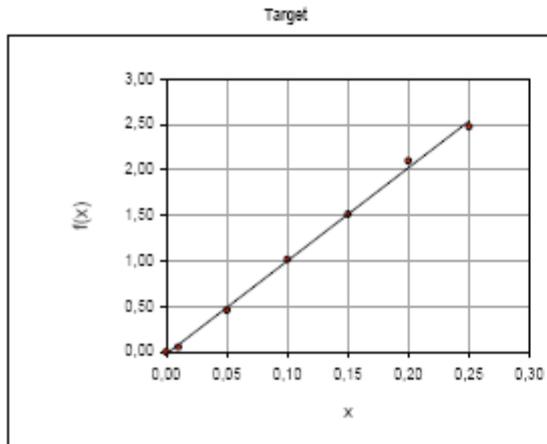
Prüfwert  
Kritischer-Wert  
Linear?

0,620	
21,190	
ja	

#### Grenzwerte

Alpha-Fehler  
Ergebnisunsicherheit  
Nachweisgrenze  
Erfassungsgrenze  
Bestimmungsgrenze  
Bestimmungsgrenze

1,00	100,00	%
33,33		%
0,011		
0,023		
0,036		(Näherung)
0,036		(exakt)



#### Lineare Funktionen und Vertrauensbereiche

$$f(x) = a \cdot x + b$$

$$a = 10,236 \pm 0,828$$

$$b = -0,024 \pm 0,116$$

#### Vertrauensbereich

$$a_{\min} = 11,063 \quad b_{\min} = 0,092$$

$$a_{\max} = 9,408 \quad b_{\max} = -0,140$$

$$f(x) = a \cdot x + b$$

$$a =$$

$$b =$$

#### Vertrauensbereich

$$a_{\min} =$$

$$a_{\max} =$$

$$b_{\min} =$$

$$b_{\max} =$$

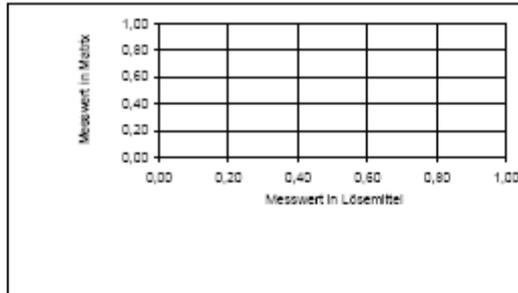
## Validierungsprotokoll

Seite:	5 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	07.08.06	Methode:	LC/MS

### 4. Lösemittelkalibration

Signifikanz: 0,00 %

	Kalibrator Konz. µg/ml	LM $x_0$ Information arearatio	Matrix $x_m$
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			



$x_m$  = Messwerte mit Matrixkalibration  
 $x_0$  = Messwerte mit Lösemittelkalibration

Wiederfindungsfunktion  $x_m = a_0 \cdot x_0 + b_0$

$a_0 =$   
 $b_0 =$   
 $R =$

$a_{0, max} =$   
 $a_{0, min} =$

$b_{0, max} =$   
 $b_{0, min} =$

Ausreißer-F-Test (%)

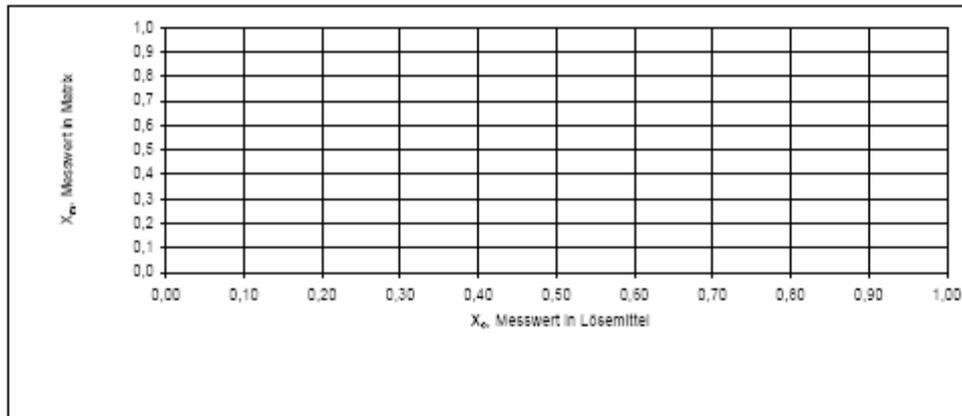
Linearitäts-Mandel-Test (%)

Varianzhomogenitäts-F-Test (%)

Kalibrator Nr.:	0
Prüfwert	
Kritischer-Wert	
Ausreißer?	zu wenig Werte

Prüfwert	
Kritischer-Wert	
Linear auswertbar?	Fehler

Rest-SD Lösemittel	0,000
Rest-SD Matrix	0,000
Prüfwert	
Kritischer-Wert	
Homogen?	



## Validierungsprotokoll

Seite:	6 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	07.08.06	Methode:	LC/MS

## 5. Wiederfindung

Konzentration: 0,025 µg/ml  
(niedrig)

	Lösemittel	Matrix
1	0,011	0,013
2	0,012	0,006
3	0,012	0,007
4	0,012	0,006
5		
6		
7		
8		
9		
10		
<b>Mittelwert:</b>	0,012	0,006
<b>SD</b>	0,001	0,003
<b>Varianz</b>	0,000	0,000
<b>Anzahl der Werte</b>	4	4
<b>Wiederfindung, %</b>	68,08	
<b>SD, %</b>	32,19	

Konzentration: 0,50 µg/ml  
(hoch)

	Lösemittel	Matrix
1	0,350	0,175
2	0,342	0,196
3	0,271	0,157
4	0,255	0,170
5		
6		
7		
8		
9		
10		
<b>Mittelwert:</b>	0,305	0,175
<b>SD</b>	0,046	0,017
<b>Varianz</b>	0,002	0,000
<b>Anzahl der Werte</b>	4	4
<b>Wiederfindung, %</b>	57,42	
<b>SD, %</b>	6,85	

## 11.2.2 Validierungsprotokoll zur Bestimmung von Zolpidem mittels LC-MS:

### Validierungsprotokoll

Seite:	1 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	01.06.06	Methode:	LC/MS

Titel	Bestimmung von Zolpidem mittels LC/MS
ID-Code	MET/ARZ/32

#### Angaben zur Methode

Kurzbezeichnung der Methode (ggf. Nr. der SOP)	Bestimmung von Zolpidem im Blut mittels LC/MS nach flüssig/flüssig-Extraktion
Anwendungsgebiet	Fragestellungen im Bereich der klinischen und forensischen Toxikologie
Arbeitsbereich	0,1 - 0,5 µg/ml
Analyt	Zolpidem
Weitere bestimmbare Analyte	Zopiclon

#### Verantwortlichkeiten

Leiter der Validierung	Dr. rer. nat. Hilke Andresen
Beteiligte Mitarbeiter	Levke Sonntag, Alexander Müller
Bearbeitungszeitraum	12.10.05-06.04.06
Methode gültig erklärt am	01.06.06
Methode ungültig erklärt am	
Zusammenfassung und Bewertung	Die Methode erwies sich als linear, präzise und richtig.

#### Inhaltsverzeichnis

##### 1. Arbeitsbereich und Kalibrationsmodell

- A. Target
  - A.1 Prüfung auf Varianzhomogenität (F-Test)
  - A.2 Prüfung auf Linearität (Mandel-Test)

- B. Qualifier
  - B.1 Prüfung auf Varianzhomogenität (F-Test)
  - B.2 Prüfung auf Linearität (Mandel-Test)

##### 2. Genauigkeit

- A. Niedrige Konzentration (QC1)
  - A.1. Wiederholpräzision
  - A.2. Laborpräzision
  - A.3. Richtigkeit

- B. Mittlere Konzentration (QC2)
  - B.1. Wiederholpräzision
  - B.2. Laborpräzision
  - B.3. Richtigkeit

##### C. Hohe Konzentration (QC3)

- C.1. Wiederholpräzision
- C.2. Laborpräzision
- C.3. Richtigkeit

##### 3. Grenzwerte

- 3.1. Bestimmung der Nachweisgrenze (schwaches Ion)
- 3.2. Bestimmung der Bestimmungsgrenze (intensives Ion)

##### 4. Wiederfindungsrate (bei Lösungsmittelkalibrationen)

- 4.1. Bestimmung der Wiederfindungsfunktion
- 4.2. Linearitätsprüfung der Wiederfindungsfunktion
- 4.3. Varianzhomogenitätsprüfung der Wiederfindungsfunktion

##### 5. Wiederfindung

- 5.1. Bestimmung der Wiederfindung für niedrige Konzentration
- 5.1. Bestimmung der Wiederfindung für hohe Konzentration

## Validierungsprotokoll

Seite:	2 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	01.06.06	Methode:	LC/MS

### 1. Arbeitsbereich und Kalibrationsmodell

**A. Target**      Messsignal: 306      Messgröße: arearatio      Einheit: µg/ml

	Leerwert	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konzentration	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50				
1	0,000	3,023	6,030	9,841	13,812	16,276				
2	0,000	4,979	6,768	10,839	13,917	17,166				
3	0,000	3,001	5,826	10,779	12,998	15,575				
4	0,000	4,014	7,067	11,242	14,128	20,183				
5	0,000	3,368	8,101	12,834	16,086	21,736				
6	0,000	4,979	6,768	10,840	13,917	17,166				
7										
8										
9										
10										
Mittelwert	0,000	3,694	6,727	11,062	14,143	18,017				
SD	0,000	0,917	0,861	0,984	1,029	2,407				
Varianz	0,000	0,840	0,741	0,969	1,060	5,793				
Werte	6	6	6	6	6	6				

**Grubbe-Test auf Straggler (Signifikanz: 95%)**

Extremwert	0,000	4,979	8,101	12,834	16,086	21,736				
Prüfwert	1,164	1,595	1,800	1,888	1,845					
Tabellenwert	1,822	1,822	1,822	1,822	1,822	1,822				
Straggler?	nein	nein	nein	ja	nein					

**Grubbe-Test auf Ausreißer (Signifikanz: 99%)**

Tabellenwert	1,944	1,944	1,944	1,944	1,944	1,944				
Ausreißer?	nein	nein	nein	nein	nein	nein				

**F-Test auf Varianzhomogenität (Signifikanz: 99%)**

Kalibrator 1 und 6

Prüfwert	6,882
Tabellenwert	10,957
Homogen?	ja

**Mandel-Test auf Linearität (Signifikanz: 99%)**

Prüfwert	0,050
Tabellenwert	34,110
Linear?	ja

**B. Qualifier**      Messsignal: 306      Messgröße: arearatio      Einheit: µg/ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konzentration									
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
Mittelwert									
SD									
Varianz									
Werte									

**Grubbe-Test auf Straggler (Signifikanz: 95%)**

Extremwert										
Prüfwert										
Tabellenwert										
Straggler?										

**Grubbe-Test auf Ausreißer (Signifikanz: 99%)**

Tabellenwert										
Ausreißer?										

**F-Test auf Varianzhomogenität (Signifikanz: 99%)**

Kalibrator 1 und 6

Prüfwert	--
Tabellenwert	--
Homogen?	--

**Mandel-Test auf Linearität (Signifikanz: 99%)**

Prüfwert	--
Hinweis	--
	--

## Validierungsprotokoll

Seite:	3 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	01.06.06	Methode:	LC/MS

**2. Genauigkeit**

**A. Niedrige Konzentration (QC-1): 0,20 µg/ml**

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	0,232	0,215	0,276	0,251	0,250	0,230	0,233	0,230		
2	0,224	0,223	0,250	0,215	0,262	0,241	0,253	0,242		
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
<b>Mittelwert</b>	0,228	0,219	0,263	0,233	0,256	0,236	0,243	0,236		
<b>Bias, %</b>	14,00	9,50	31,50	16,50	25,00	17,75	21,50	18,00		
<b>SD</b>	0,006	0,006	0,018	0,025	0,008	0,008	0,014	0,008		
<b>RSD, %</b>	2,48	2,55	6,99	10,93	3,31	3,30	5,82	3,60		

	<b>Kenndaten</b>	<b>Wiederholpräzision</b>	<b>Laborpräzision</b>	<b>Richtigkeit</b>
MW (ges.)	0,239	SD	0,013	Abw.
SD	0,017	RSD, %	5,64	Bias, %
RSD, %	7,14		RSD, %	7,23

**B. Mittlere Konzentration (QC-2): 0,00 µg/ml**

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
<b>Mittelwert</b>										
<b>Bias, %</b>										
<b>SD</b>										
<b>RSD, %</b>										

	<b>Kenndaten</b>	<b>Wiederholpräzision</b>	<b>Laborpräzision</b>	<b>Richtigkeit</b>
MW (ges.)		SD		Abw.
SD		RSD, %		Bias, %
RSD, %			RSD, %	

**C. Hohe Konzentration (QC-3): 0,50 µg/ml**

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	0,481	0,500	0,490	0,480	0,452	0,450	0,540	0,450		
2	0,470	0,450	0,500	0,500	0,442	0,464	0,500	0,460		
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
<b>Mittelwert</b>	0,476	0,475	0,495	0,490	0,447	0,457	0,570	0,455		
<b>Bias, %</b>	-4,90	-5,00	-1,00	-2,00	-10,60	-6,60	14,00	-9,00		
<b>SD</b>	0,008	0,035	0,007	0,014	0,007	0,010	0,099	0,007		
<b>RSD, %</b>	1,64	7,44	1,43	2,89	1,56	2,17	17,37	1,55		

	<b>Kenndaten</b>	<b>Wiederholpräzision</b>	<b>Laborpräzision</b>	<b>Richtigkeit</b>
MW (ges.)	0,483	SD	0,035	Abw.
SD	0,047	RSD, %	7,27	Bias, %
RSD, %	9,69		RSD, %	9,80

## Validierungsprotokoll

Seite:	4 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	01.06.06	Methode:	LC/MS

### 3. Grenzwerte (DIN 32645)

	Kalibrator	Target	Qualifier
	µg/ml	arearefio	arearefio
		308,000000	
1	0,00	0,000	0,000
2	0,10	3,997	3,997
3	0,20	6,727	6,727
4	0,30	11,062	11,062
5	0,40	14,143	14,143
6	0,50	18,017	18,017
7			
8			
9			
10			

Wertepaare	6	6
Messungen	5	5
Signifikanz	99,00	95,00
k-Wert	3,00	3,00

#### Ausreißer-F-Test

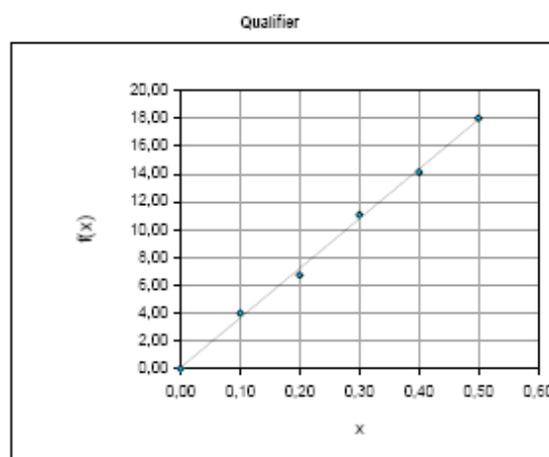
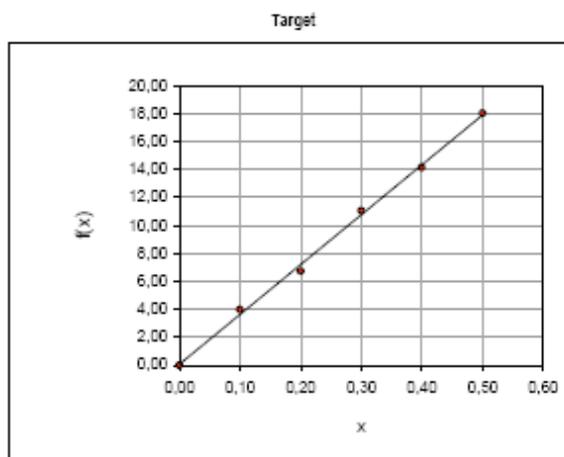
Kalibrator Nr.	Target	Qualifier
3	3	3
Prüfwert	3,920	3,920
Kritischer Wert 95%	10,120	10,120
Straggler?	nein	nein
Kritischer Wert 99%	34,110	34,110
Ausreißer?	nein	nein

#### Linearitäts-Mandel-Test

Prüfwert	0,040	0,040
Kritischer Wert	34,110	10,120
Linear?	ja	ja

#### Grenzwerte

Alpha-Fehler	1,00	5,00	%
Ergebnisunsicherheit	33,33	33,33	%
Nachweisgrenze	0,032	0,018	
Erfassungsgrenze	0,063	0,036	
Bestimmungsgrenze	0,097	0,063	(Näherung)
Bestimmungsgrenze	0,097	0,062	(exakt)



#### Lineare Funktionen und Vertrauensbereiche

$$f(x) = a \cdot x + b$$

$$a = 36,674 \pm 3,880$$

$$b = 0,073 \pm 1,175$$

##### Vertrauensbereich

$$a_{\min} = 39,554 \quad b_{\min} = 1,247$$

$$a_{\max} = 31,793 \quad b_{\max} = -1,102$$

$$f(x) = a \cdot x + b$$

$$a = 36,674 \pm 2,340$$

$$b = 0,073 \pm 0,708$$

##### Vertrauensbereich

$$a_{\min} = 38,014 \quad b_{\min} = 0,781$$

$$a_{\max} = 33,334 \quad b_{\max} = -0,636$$

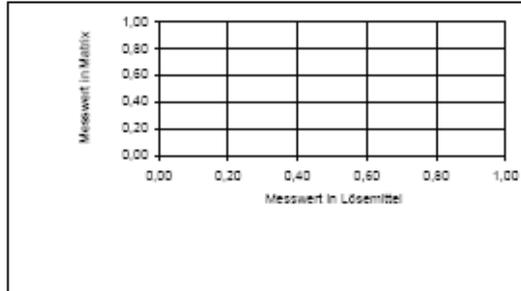
# Validierungsprotokoll

Seite:	5 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	01.06.06	Methode:	LC/MS

## 4. Lösemittelkalibration

Signifikanz: 0,00 %

Kalibrator Konz.	LM $x_0$	Matrix $x_m$
$\mu\text{g/ml}$	Information	arearatio
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		



$X_m$  = Messwerte mit Matrixkalibration  
 $X_0$  = Messwerte mit Lösemittelkalibration

Wiederfindungsfunktion  $X_m = a_0 + X_0 + b_0$

$a_0 =$   
 $b_0 =$   
 $R =$

$a_{0, \text{rel}} =$   
 $b_{0, \text{rel}} =$

$b_{0, \text{rel}} =$   
 $b_{0, \text{rel}} =$

Ausreißer-F-Test (%)

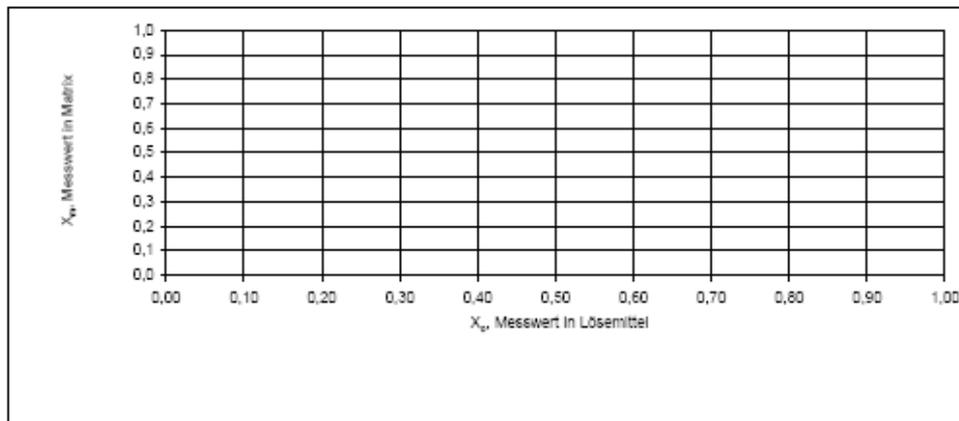
Linearitäts-Mandel-Test (%)

Varianzenhomogenitäts-F-Test (%)

Kalibrator Nr.	0
Prüfwert	
Kritischer-Wert	
Ausreißer?	zu wenig Werte

Prüfwert	
Kritischer-Wert	
Linear auswertbar?	Fehler

Rest-SD Lösemittel	0,000
Rest-SD Matrix	0,000
Prüfwert	
Kritischer-Wert	
Homogen?	



## Validierungsprotokoll

Seite:	6 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gültig ab:	01.06.06	Methode:	LC/MS

## 5. Wiederfindung

Konzentration: 0,20 µg/ml  
(niedrig)

	Lösemittel	Matrix
1	5,485	2,635
2	5,385	2,742
3	5,488	2,634
4	5,371	2,918
5		
6		
7		
8		
9		
10		
<b>Mittelwert</b>	5,433	2,717
<b>SD</b>	0,063	0,171
<b>Varianz</b>	0,004	0,029
<b>Anzahl der Werte</b>	4	4
<b>Wiederfindung, %</b>	50,02	
<b>SD, %</b>	3,70	

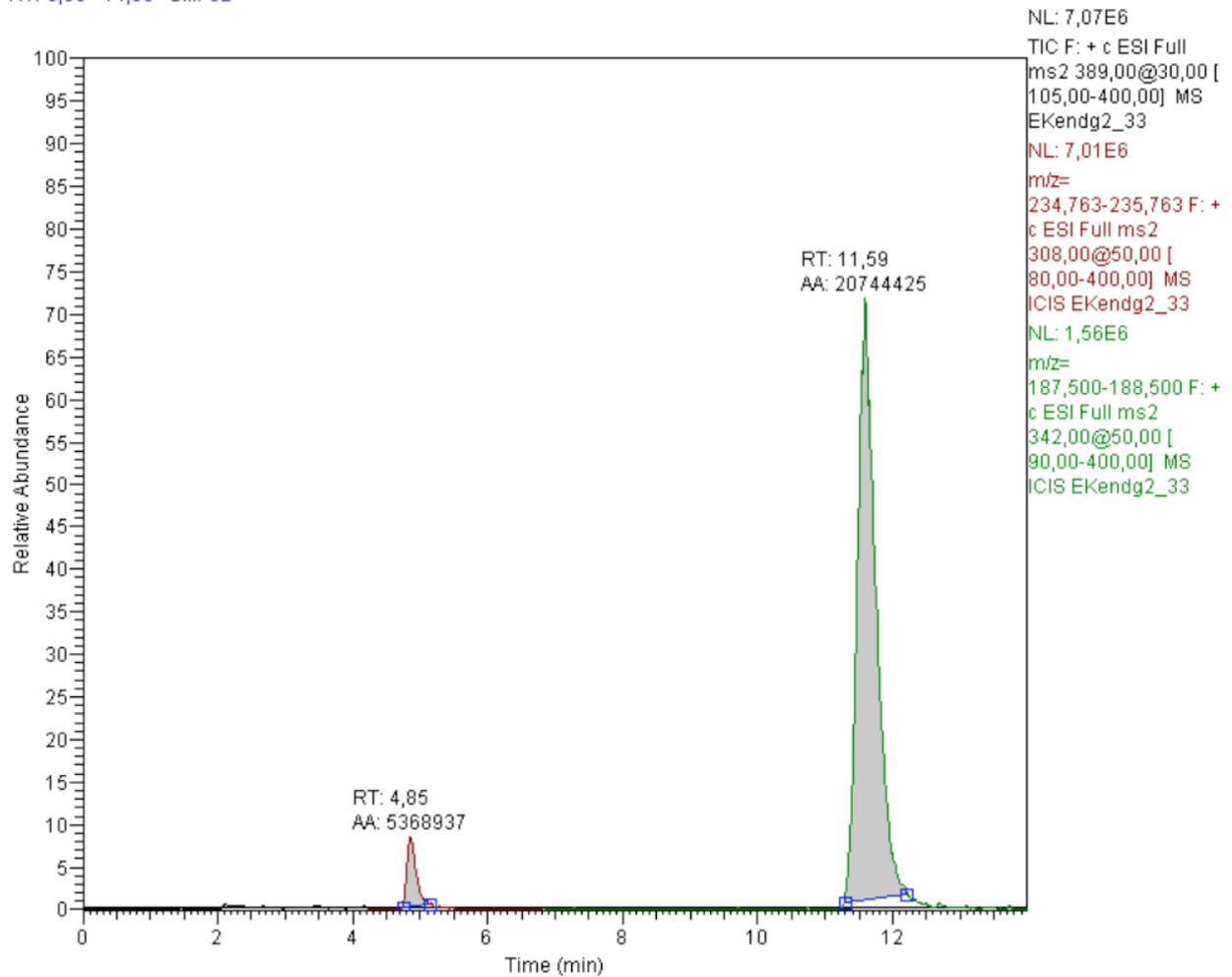
Konzentration: 1,00 µg/ml  
(hoch)

	Lösemittel	Matrix
1	3,312	2,091
2	3,059	2,213
3	3,355	2,042
4	3,277	2,236
5		
6		
7		
8		
9		
10		
<b>Mittelwert</b>	3,251	2,195
<b>SD</b>	0,132	0,071
<b>Varianz</b>	0,017	0,005
<b>Anzahl der Werte</b>	4	4
<b>Wiederfindung, %</b>	67,54	
<b>SD, %</b>	3,82	



### 11.3.2 Exemplarisches Chromatogramm einer Zolpidem-Messung mittels LC-MS

RT: 0,00 - 14,00 SM: 5B



## 11.4 Poster

### 11.4.1 Poster anlässlich der 16. Frühjahrstagung (Nord) der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg, 11. – 12.05.2007



#### Die Bedeutung der neueren Hypno-Sedativa Zopiclon und Zolpidem im klinisch-toxikologischen Untersuchungsgut unter besonderer Berücksichtigung der klassischen Benzodiazepine

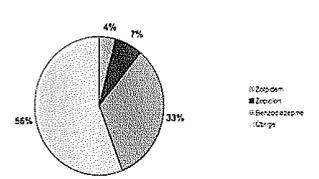
L. Sonntag, A. Müller, A. Schmoldt, H. Andresen

**Einleitung**  
Die Hypno-Sedativa Zolpidem und Zopiclon wurden 2005 allein in der BRD mit über 2 Millionen definierten Tagesdosen häufiger verschrieben als die klassischen Benzodiazepine und haben diese als Spitzenreiter in der Behandlung von Schlafstörungen in Deutschland abgelöst (Abb. 1 und 2).  
In der Praxis der klinischen Toxikologie der Rechtsmedizin in Hamburg gibt es bisher nur wenige Hinweise auf eine gleichzeitige Zunahme von Missbrauch und/oder Intoxikationen mit den sog. „Z-Drugs“. Allerdings lagen bisher keine lückenlosen Daten auf der Basis analytischer Untersuchungen vor, da Notfallproben bei Verdacht auf eine Intoxikation zunächst mit immunologischen Testverfahren auf die häufigsten illegalen Drogen und Medikamentengruppen als „Screening“ – Methode untersucht und Zopiclon und Zolpidem damit nicht erfasst werden. Für den Nachweis dieser und weiterer Substanzen sind aufwendigere Analysemethoden (z.B. HPLC, GC/MS) erforderlich, die im Notdienst bei eingeschränktem Untersuchungsauftrag nicht bei allen eingesandten Proben durchgeführt werden.

**Methoden**  
Mit einer im Institut für Rechtsmedizin, Hamburg, entwickelten und validierten LC-MS- (Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie) Methode (s. Abbildung 3) wurden 172 Notfall-Serumproben, die im Zeitraum Juni 2005 bis März 2006 eingesandt worden waren, auf das Vorhandensein von Zolpidem und Zopiclon nachuntersucht. Die betroffenen Patientinnen und Patienten waren aufgrund einer Intoxikations-Verdachtsdiagnose und/oder einer klinischen Symptomatik (unklare Bewusstseinslage) auffällig geworden. In der Studie wurden Anamnese und klinische Symptomatik der Patientinnen und Patienten, Fragestellung der einweisenden Ärztinnen und Ärzte sowie im Rahmen der Notfalldiagnostik erfolgte Erstuntersuchungen berücksichtigt.

**Ergebnisse**  
Insgesamt 57 der 172 untersuchten Proben konnten Benzodiazepine nachgewiesen werden (33%). Eine Intoxikation mit Benzodiazepinen lag dabei in 10 Fällen vor; Zopiclon wurde in lediglich 12 Proben (7%) detektiert. Hier handelte es sich in 6 Fällen um Intoxikationen und in 4 Fällen um Verlaufskontrollen. Ein Nachweis von Zolpidem fand sich in 7 der insgesamt 172 Proben (4%), von denen in 5 Proben eine toxische Konzentration von Zolpidem bestimmt werden konnte (s. Abb.4). In Tabelle 1 und 2 wurde das Patientenkollektiv bzgl. der Fragestellung und der nachgewiesenen Substanzen charakterisiert.

**Abb. 4 : Nachweis von Zopiclon, Zolpidem und Benzodiazepinen in 172 Notfallserumproben**



**Tab. 1: Charakteristika der Notfallproben mit positivem Zopiclon-Nachweis**

Zopiclon	m	w
Anzahl	5	7
Alter	27-65	29-57
Fragestellung (anamnestisch) auf:		
Intoxikation allgemein	0	2
Medikamenten-Intoxikation	2	1
Alkohol + Medikamenten-Intoxikation	0	1
Suizid + Medikamenten-Intoxikation	1	0
Suizid + Medikamenten-Intoxikation	0	0
Medikamenten-Konzentrations-Bestimmung	0	0
Verlaufskontrolle	2	2
Mischtoxikation	0	1
Trauma/Unfall	0	0
Nachweis in Kombination mit:		
Alkohol	0	1
Benzodiazepinen	1	1
Benzodiazepinen + Alkohol	0	1
Benzodiazepinen + Sonstige Medikamente	0	0
Benzodiazepinen + Psychopharmaka	0	0
Psychopharmaka	1	2
Sonstige Medikamente	0	0

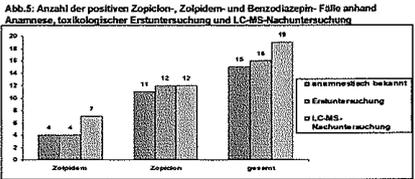
**Tab. 2: Charakteristika der Notfallproben mit positivem Zolpidem-Nachweis**

Zolpidem	m	w
Anzahl	3	4
Alter	40-65	21-67
Fragestellung (anamnestisch) auf:		
Intoxikation allgemein	1	1
Medikamenten-Intoxikation	0	1
Alkohol + Medikamenten-Intoxikation	1	0
Suizid + Medikamenten-Intoxikation	0	0
Suizid + Medikamenten-Intoxikation	0	1
Medikamenten-Konzentrations-Bestimmung	0	1
Verlaufskontrolle	0	0
Mischtoxikation	0	0
Trauma/Unfall	1	0
Nachweis in Kombination mit:		
Alkohol	1	0
Benzodiazepinen	1	1
Benzodiazepinen + Alkohol	0	0
Benzodiazepinen + Sonstige Medikamente	0	0
Benzodiazepinen + Psychopharmaka	1	0
Psychopharmaka	0	1
Sonstige Medikamente	0	1

**Diskussion**  
Mit dem Ziel, Kosten zu reduzieren, wird immer häufiger in den Kliniken nur ein immunologisches Screening angefordert, mit dem viele der häufig vertretene Substanzen (Neuroleptika, Tramadol, „Z-Drugs“) nicht erfasst werden können. Bei der Nachuntersuchung mit der LC-MS-Methode konnten zusätzlich zur Erstuntersuchung 3 Proben positiv für Zolpidem gefunden und damit eine höhere Spezifität erreicht werden. Diese Proben waren in der Erstuntersuchung lediglich mit immunologischen Methoden untersucht worden (s. Abb.5). Im Vergleich zu Zopiclon und Zolpidem wurden die Benzodiazepine dreimal häufiger nachgewiesen (11% vs. 33%), die Anzahl der tatsächlichen Intoxikationen lag jedoch bei den „Z-Drugs“ höher als bei den Benzodiazepinen (11 vs. 10 Fälle).

**Schlussfolgerung**  
Zolpidem und Zopiclon scheinen durch ihre hohe Anwendungshäufigkeit als Ursache für Intoxikationen eine mindestens ebenso große Rolle wie die Benzodiazepine zu spielen. Deshalb sind „Z-Drugs“ durchaus als Grund für Intoxikationen zu beachten. Eine häufige Einnahme dieser Substanzen als Hinweis für eine potentielle Missbrauchsgefahr konnte durch diese Studie nicht belegt werden. Diese Ergebnisse zeigen jedoch, dass bei dem Verdacht einer Intoxikation als Ursache für eine unklare Bewusstseinslage auf eine umfangreichere Analytik nicht verzichtet werden sollte. Weiterführende Trendbeobachtungen zur Häufigkeit werden helfen zu entscheiden, ob die Etablierung eines eigenständigen immunologischen Essays zum routinemäßigen Screening für diese Substanzgruppe sinnvoll wäre.

**Abb. 5: Anzahl der positiven Zopiclon-, Zolpidem- und Benzodiazepin-Fälle anhand Anamnese, toxikologischer Erstuntersuchung und LC-MS-Nachuntersuchung**



## **11.5 Eidesstattliche Versicherung**

### **EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG:**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.