

Entwicklung einer umfangreichen
Analyse­methode zur Untersuchung von
Urinproben zum Nachweis einer
K.-o.-Tropfen-Beibringung

Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Anne Szewczyk
aus Bad Muskau

Hamburg 2022

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2016 bis Januar 2022 im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg (Direktor Prof. Dr. med. Benjamin Ondruschka) angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. W. Maison
2. Gutachterin: PD Dr. H. Andresen-Streichert

Prüfungskommission:

1. Prof. Dr. W. Maison
2. PD Dr. S. Iwersen-Bergmann
3. Dr. M. Riedner

Disputation am: 10.06.2022

Meinen Eltern und meiner Oma gewidmet

Danksagungen

Meiner Doktormutter Frau PD Dr. Hilke Andresen-Streichert, Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, später Uniklinik Köln, möchte ich für die Überlassung des Themas sowie die immer geduldige und motivierende Unterstützung ganz herzlich danken.

Herrn Professor Dr. Wolfgang Maison, Institut für Pharmazie der Universität Hamburg, danke ich für die Vertretung der Arbeit im Fachbereich Chemie.

Meinen Kolleginnen und Kollegen am Institut für Rechtsmedizin danke ich für die immer freundschaftliche Zusammenarbeit, die moralische Unterstützung, sowie die stete Hilfsbereitschaft, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Mein ganz persönlicher Dank gilt meinen Eltern und meiner Oma für ihre Ermutigungen und die Unterstützung in den letzten Jahren.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abkürzungsverzeichnis.....	VII
1 Zusammenfassung.....	1
2 Abstract.....	3
3 Einleitung.....	6
3.1 K.-o.-Tropfen: Definition.....	6
3.2 Historische Entwicklung.....	6
3.3 Als K.-o.-Tropfen einsetzbare Substanzen.....	7
3.3.1 Opioide.....	7
3.3.2 Benzodiazepine und Z-Substanzen.....	7
3.3.3 Antihistaminika.....	8
3.3.4 Myotonolytika.....	8
3.3.5 Barbiturate.....	8
3.3.6 Psychopharmaka.....	9
3.3.7 Antikonvulsiva.....	10
3.3.8 Weitere Substanzen.....	10
3.4 Strafrechtliche Verfolgung.....	13
3.5 Untersuchungsmaterialien: Blut vs. Urin vs. Haare.....	13
4 Fragestellung.....	14
5 Materialien.....	15
5.1 Chemikalien.....	15
5.2 Geräte.....	19
5.3 Verbrauchsmaterialien.....	20
5.4 Software.....	20
6 Methoden.....	20
6.1 Auswahl der Substanzen.....	21
6.2 LC-MS/MS.....	22
6.2.1 Messprinzip.....	22

6.2.2	Tuning (Massenspektrometrie)	26
6.2.3	Chromatographie.....	27
6.3	Probenvorbereitung	28
6.3.1	Verdünnungsversuche.....	28
6.3.2	Extraktion mittels Festphasen (SPE).....	29
6.4	Ermittlung der finalen Methode.....	31
6.4.1	Überprüfung der Leistungsfähigkeit der finalen Methode	31
6.5	Methodenvalidierung.....	32
6.5.1	Interferenzen.....	32
6.5.2	Matrixeffekte.....	33
6.5.3	Wiederfindung.....	33
6.5.4	Limit of Detection (Nachweisgrenzen)	34
6.5.5	Stabilität.....	34
6.6	Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg....	34
6.6.1	Erstellung des Untersuchungskollektivs.....	35
6.6.2	Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle mit der entwickelten Methode.....	35
6.6.3	Auswertung der Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle	35
7	Ergebnisse.....	35
7.1	Auswahl der Substanzen	35
7.2	Kategorisierung der ausgewählten Substanzen	37
7.2.1	Kategorie 0.....	37
7.2.2	Kategorie 1.....	38
7.2.3	Kategorie 2.....	39
7.2.4	Kategorie 3.....	40
7.3	LC-MS/MS.....	40
7.3.1	Tuning.....	40
7.3.2	Chromatographie.....	42
7.4	Finale Methode	46
7.4.1	Probenvorbereitung	46

7.4.2	LC-MS/MS-Parameter	47
7.5	Methodenvalidierung.....	48
7.5.1	Interferenzen.....	48
7.5.2	Matrixeffekte.....	48
7.5.3	Wiederfindung	49
7.5.4	Limit of Detection (Nachweisgrenzen).....	49
7.5.5	Stabilität	49
7.6	Ergebnisse der Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg	50
7.6.1	Erstellung des Untersuchungskollektivs und Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle mit der entwickelten Methode.....	50
7.6.2	Auswertung der K.-o.-Fälle hinsichtlich Alter, Geschlecht, Auftraggeber, Delikt, Vorfallszeit und Zeitpunkt der Probenasservierung	51
7.6.3	Auswertung der Untersuchungsergebnisse der neu entwickelten Methode.....	55
8	Diskussion.....	67
8.1	Auswahl der Substanzen	67
8.2	Kategorisierung der ausgewählten Substanzen.....	68
8.2.1	Kategorie 0	68
8.2.2	Kategorie 1	69
8.2.3	Kategorie 2	70
8.2.4	Kategorie 3	71
8.3	LC-MS/MS.....	71
8.3.1	Tuning.....	71
8.3.2	Chromatographie	72
8.4	Finale Methode	74
8.4.1	Probenvorbereitung – Verdünnung vs. Festphasenextraktion.....	74
8.5	Methodenvalidierung.....	76
8.5.1	Interferenzen.....	76
8.5.2	Matrixeffekte.....	76

8.5.3	Wiederfindung.....	77
8.5.4	Limit of Detection (Nachweisgrenzen)	78
8.5.5	Stabilität.....	79
8.6	Diskussion der Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg.....	80
8.6.1	Erstellung des Untersuchungskollektivs und Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle mit der entwickelten Methode	80
8.6.2	Auswertung der K.-o.-Fälle hinsichtlich Alter, Geschlecht, Auftraggeber, Delikt, Vorfallszeit und Zeitpunkt der Probenasservierung.....	81
8.6.3	Diskussion der Analysenergebnisse der K.-o.-Verdachtsfälle	83
8.7	Vergleich der Ergebnisse der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle mit bisher veröffentlichten Studien	93
8.8	Fazit	98
	Literaturverzeichnis	100
	Anhang.....	108
	Lebenslauf	148
	Erklärung.....	149

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Diagramm des Flussweges der verwendeten UHPLC-Anlage.....	23
Abbildung 2: ESI-Interface Z-Spray™ - Darstellung des verwendeten Ionenspray-Verfahrens	24
Abbildung 3: Aufbau des verwendeten Massenspektrometers	25
Abbildung 4: TIC-Spektren der Analyten der Methode A (73 Analyten).....	43
Abbildung 5: TIC-Spektren der Analyten der Methode B (63 Analyten).....	44
Abbildung 6: TIC-Spektren der Analyten der Methode C (4 Analyten)	45
Abbildung 7: TIC-Spektren der Analyten der Methode D (2 Analyten)	45
Abbildung 8: Retrospektive Untersuchung 166 K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg im Zeitraum von Januar 2017 bis April 2020.....	51
Abbildung 9: Auftraggeber der K.-o.-Fälle	51
Abbildung 10: Auftraggeber der untersuchten K.-o.-Fälle in den Jahren 2017 bis April 2020	52
Abbildung 11: Geschlechterverteilung der K.-o.-Fälle	52
Abbildung 12: Geschlechterverteilung der untersuchten K.-o.-Fälle in den Jahren 2017 bis April 2020.....	52
Abbildung 13: Über die K.-o.-Mittel-Beibringung hinaus angezeigte Delikte	53
Abbildung 14: Geschlechterverteilung der angezeigten Delikte.....	53
Abbildung 15: Altersverteilung der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle.....	54
Abbildung 16: Zeitintervall zwischen Vorfallszeit und Probenasservierung.....	54
Abbildung 17: K.-o.-Verdachtsfälle mit positivem Nachweis eines oder mehrerer Analyten der neu entwickelten Methode	55
Abbildung 18: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtfalls F148 mit einem positiven Befund für Lorazepam	56
Abbildung 19: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtfalls F2 mit einem negativen Befund für Lorazepam	56
Abbildung 20: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtfalls F76 mit einem positiven Befund für GHB.....	57
Abbildung 21: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtfalls F87 mit einem negativen Befund für GHB.....	57
Abbildung 22: Nachgewiesene Substanzen der Methode A.....	65
Abbildung 23: Nachgewiesene Substanzen der Methode B	66

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kategorisierung der ausgewählten Substanzen.....	21
Tabelle 2: Gradienten 1 bis 6 und isokratische Zusammensetzungen	28
Tabelle 3: Verdünnungsreihe der Urinproben	29
Tabelle 4: Festphasenextraktion	31
Tabelle 5: Dotierung der Kontrollproben	32
Tabelle 6: Übersicht der ausgewählten Substanzen mit Eignung als K.-o.-Mittel.....	36
Tabelle 7: Kategorie 0.....	38
Tabelle 8: Kategorie 1.....	38
Tabelle 9: Kategorie 2.....	39
Tabelle 10: Kategorie 3.....	40
Tabelle 11: Einteilung der Substanzklassen in Methode A, B, C, D.....	42
Tabelle 12: Ausgewählte interne Standards.....	45
Tabelle 13: Zugabe interner Standard-Lösung	46
Tabelle 14: Ionen-Suppression und -Enhancement ausgewählter Analyten	48
Tabelle 15: Ausgewählte Fälle aus dem Untersuchungsgut des Instituts für Rechtsmedizin Hamburg aus den Jahren 2017 bis April 2020.....	58
Tabelle 16: Vergleich der Ergebnisse der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle mit bisher veröffentlichten Studien.....	97
Tabelle 17: Massenspektrometrische Daten Methode A, B, C, D	119
Tabelle 18: Chromatographie- und Validierungsergebnisse Methode A, B, C, D.....	127
Tabelle 19: Zusammenfassung aller untersuchten K.-o.-Fälle	135

Abkürzungsverzeichnis

BAK	Blutalkoholkonzentration
BSTFA	N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid
BtMG	Betäubungsmittelgesetz
CE	Collision Energy (Kollisionsenergie)
CYP	Cytochrom P
DFC	Drug Facilitated Crime (durch Drogen herbeigeführtes Verbrechen)
DFSA	Drug Facilitated Sexual Assault (durch Drogen herbeigeführter sexueller Übergriff)
E. coli	Escherichia coli
EDDP	2-Ethyliden-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidin
EMA	European Medicines Agency (Europäische Arzneimittel-Agentur)
ESI	Elektronenspray Ionisation
FAc	Formic Acid (Ameisensäure)
GABA	Gammaaminobuttersäure
GBL	Gammabutyrolacton
GC-MS	Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
GHB	Gammahydroxybuttersäure
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologie und Forensische Chemie
H₂O	Wasser
HM	High Mass (hoher Massenbereich)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochdruckflüssigkeitschromatographie)
i.v.	intravenös
i.m.	intramuskulär
ISTD	Interner Standard
k.A.	keine Angabe
KOH	Kaliumhydroxid
LC-MS/MS	Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandemmassenspektrometrie
LLOQ	Lower Limit of Quantification (Bestimmungsgrenze)
LM	Low Mass (niedriger Massenbereich)
LOD	Limit of Detection (Nachweisgrenze)
m	männlich
MBDB	Methylbenzodioxolylbutamin

MDA	3,4-Methylendioxyamphetamin
MDEA	3,4-Methylendioxy-N-ethylamphetamin
MDMA	3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin
MeOH	Methanol
MRM	Multiple Reaction Monitoring (Mehrfachreaktionen-Aufzeichnung)
NaOH	Natriumhydroxid
NARI	Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitor
NaSSA	Noradrenalin-selektiver-Serotonin-Antagonist
RAP	Rearrangement Product (Umlagerungsprodukt)
RT	Retention Time (Retentionszeit)
s.c.	subkutan
SNRI	Serotonin-Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitor
SOFT	Society of Forensic Toxicology
SPE	Solid Phase Extraction (Festphasenextraktion)
SSRI	selektiver Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitor
StGB	Strafgesetzbuch
TCA	Trizyklische Antidepressiva
TMCS	Trimethylchlorsilan
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography (Ultrahochdruckflüssigkeitschromatographie)
w	weiblich

1 Zusammenfassung

Zentral wirksame Medikamente und Drogen, die einer Person ohne deren Wissen und Zustimmung verabreicht werden, um eine Bewusstseinsbeeinträchtigung bis hin zur Handlungsunfähigkeit herbeizuführen, werden unter dem Begriff „K.-o.-Mittel“ bzw. „Date-Rape Drugs“ zusammengefasst. Dabei kommt die Verabreichung von K.-o.-Substanzen nicht nur im öffentlichen Raum wie in Bars oder in Clubs vor, sondern auch aus dem privaten Kreis werden immer wieder Fälle berichtet. Bisher gibt es keine einheitlichen Vorgaben an die Labore im Hinblick auf das durchzuführende Untersuchungsspektrum und die Art der Proben (Blut, Urin oder Haare) im Falle des Verdachtes einer K.-o.-Mittel-Beibringung. Ziel dieser Arbeit war es, eine sensitive, umfassende Analysenmethode zur Untersuchung von Urinproben auf potentielle K.-o.-Substanzen zu entwickeln, die sich gleichzeitig durch eine praktikable Probenvorbereitung auszeichnet. Im Anschluss daran sollte durch die retrospektive Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg gezeigt werden, ob sich mit der neu entwickelten Methode alle bisher detektierten Substanzen ebenfalls bestätigen, aber auch zunächst möglicherweise falsch negative Ergebnisse aufdecken lassen.

Im ersten Schritt wurde durch intensive Literaturrecherche und in Anlehnung an die Empfehlung der Society of Forensic Toxicology (SOFT) eine Liste von Substanzen mit potentieller K.-o.-Mittel-Wirkung erstellt. Es folgte zur besseren Übersicht eine Einteilung der Wirkstoffe in elf Stoffgruppen. Unter Berücksichtigung pharmakokinetischer und -dynamischer Eigenschaften, der Zulassung auf dem deutschen Markt sowie der Verfügbarkeit von Referenzsubstanzen wurden die Analyten im nächsten Schritt einer Kategorisierung unterzogen und damit die Entscheidung getroffen, ob der Wirkstoff in die Methode aufgenommen werden sollte und wenn ja, ob nur eine Untersuchung auf die Muttersubstanz, nur den Metaboliten oder auf Muttersubstanz und Metabolit erfolgen soll.

Die Methode sollte auf einem LC-MS/MS-Gerät entwickelt werden. Hierfür wurden alle 143 Analyten nacheinander in das Massenspektrometer infundiert und optimale Einstellungen für eine möglichst sensitive Detektion der Substanzen festgelegt. Zur Entwicklung der Flüssigchromatographie-Methode wurden verschiedene Laufmittel, Gradienten, Laufzeiten sowie Chromatographie-Säulen getestet. Um eine ausreichende Trennung der vielen Substanzen zu gewährleisten, wurden final vier Methoden (A, B, C und D) entwickelt, wobei die Analyten der Methoden A und B jeweils in einem 20-minütigen Gradientenlauf und die Analyten der Methoden C und D jeweils in einem achtminütigen Gradientenlauf über eine 10 cm Biphenyl-Säule vermessen wurden.

Für die Extraktion der Urinproben wurden Verdünnungsversuche und verschiedene Festphasen-Materialien miteinander verglichen. Final wurden die Substanzen der Methoden A, B und C über die Chromabond® HLB-SPE-Säule und die Substanzen der Methode D über die Chromabond® HR-XA-SPE-Säule extrahiert. Insgesamt wurden für die Untersuchung eines K.-o.-Falls 2 mL Urin benötigt und die Extrakte in den vier Methoden bei einer Gesamtlaufzeit von 56 Minuten vermessen.

Es folgte die Validierung der neu entwickelten qualitativen Screening-Methode. Hierbei stellte vor allem die Untersuchung auf Matrixeffekte eine große Herausforderung dar. Durch eine nochmalige Verdünnung der Extrakte vor der Injektion ließen sich diese Störungen noch einmal deutlich verringern. Dennoch zeigten einige wenige Analyten weiterhin eine starke Ionen-Suppression oder ein starkes Ionen-Enhancement. Trotzdem ließ sich mit der neu entwickelten Methode eine sehr gute Sensitivität für die meisten der 143 Substanzen mit Nachweisgrenzen kleiner 5 ng/mL ermitteln und somit die von der SOFT empfohlenen Detektionslimits erreichen oder unterschreiten.

Anschließend wurde die neu entwickelte Methode für reale K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg eingesetzt. Insgesamt wurden 166 K.-o.-Verdachtsfälle aus den Jahren 2017 bis April 2020 nachuntersucht. Neben der Auswertung der Fälle im Hinblick auf demographische Daten, lag das Augenmerk auf den, mit der neu entwickelten Methode detektierten Substanzen. So konnten in 60 von 166 Fällen (36,1 %) mit der neuen Methode eine oder mehrere Substanzen nachgewiesen werden. Am häufigsten ließen sich Vertreter aus der Gruppe der Benzodiazepine (n= 14), aber auch Morphin (n= 13) und Cetirizin (n= 12) detektieren. Aus der Gruppe der Psychopharmaka wurden Citalopram (n= 5), Fluoxetin (n= 4) und Pipamperon (n= 4) am häufigsten nachgewiesen. GHB war dagegen nur in drei Fällen (1,8 %) in Konzentrationen oberhalb des physiologischen Bereiches messbar. Gleichzeitig ergab sich aus den Untersuchungsergebnissen der K.-o.-Verdachtsfälle eine hohe Prävalenz für illegale Betäubungsmittel (36,1 %), Alkohol wurde in 26 % der Fälle nachgewiesen.

Überwiegend ließ sich aus den Falldaten nicht ermitteln, ob Substanzen wie illegale Betäubungsmittel freiwillig aufgenommen wurden oder andere Wirkstoffe zum Beispiel der Medikation der Geschädigten entsprachen. Daraus zeigte sich deutlich, dass eine ausführliche Befragung der Betroffenen, einschließlich der Anamnese zur Medikation, für die Interpretation von Untersuchungsergebnissen besonders wichtig ist.

Der Fokus der Arbeit lag auf der Entwicklung einer sehr empfindlichen Screening-Methode für einen qualitativen Nachweis eines großen Spektrums potentieller K.-o.-Substanzen.

Da es bei der Untersuchung von K.-o.-Verdachtsfällen in erster Linie um die Fragestellung geht, welche Substanzen möglicherweise unbemerkt von den Geschädigten aufgenommen wurden, ist eine qualitative Analytik ausreichend.

Durch die neue Methode ließen sich die mit den bisher angewendeten Methoden detektierten Substanzen ebenfalls nachweisen. Damit konnte gezeigt werden, dass die neu entwickelte Methode, trotz der Beschränkung auf 143 Substanzen, einem „General Unknown Screening“ mittels GC-MS in keiner Weise nachsteht, da diese auf die für K.-o.-Fragestellungen besonders relevanten Analyten ausgerichtet ist. Darüber hinaus konnten auch weitere, bisher nicht detektierte Substanzen identifiziert werden. Es konnte somit gezeigt werden, dass sich mit der neu entwickelten Methode auch sehr geringe Spuren von Substanzen nachweisen ließen. Vor allem wenn zwischen dem Vorfall und der Probenasservierung viel Zeit vergangen ist, ist eine möglichst hohe Sensitivität von großer Bedeutung.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich mit der neu entwickelten Methode potentielle K.-o.-Substanzen sehr sensitiv nachweisen ließen, die Methoden (A, B und C) aufgrund ihrer Praktikabilität mittlerweile in die Laborroutine aufgenommen wurden und damit bisher angewendete Untersuchungsmethoden in K.-o.-Verdachtsfällen ersetzt wurden. In Zukunft sollten auch weiterhin neue Fallberichte und die Entwicklungen auf dem Arzneimittelmarkt sowie illegale Substanzen Beachtung finden, um die Untersuchungsmethode auf dem aktuellen Stand zu halten.

2 Abstract

Central nervous system depressants – prescription medications, over-the-counter pharmaceuticals and recreational drugs of abuse – that are administered to a person without their knowledge and consent in order to render the victim become defenseless are summarized under the term “knockout drugs” or “date rape drugs”. The administration of “knockout drugs” does not only occur in public spaces such as bars or clubs, DFC (drug facilitated crime) cases are also repeatedly reported taking place in private settings. Until now, there are no standardized requirements for laboratories with regard to the range of toxicological tests to be carried out and the type of specimens (blood, urine or hair) being analyzed in cases of drug facilitated crime.

The aim of this work was to develop a sensitive, comprehensive analytical screening method for potential “knockout”-substances in urine samples. The method should also be characterized by practicable sample preparation. Subsequently, a retrospective study of real suspected DFC cases from the Institute of Forensic Medicine Hamburg was to show whether the newly developed method can also confirm all previously detected substances, but also whether false negative results can initially be uncovered.

In the first step, a list of substances with effects on the central nervous system was created through intensive research of literature and based on the recommendation of the Society of Forensic Toxicology (SOFT). For a better overview, the analytes were divided into eleven groups of substances. Taking into account pharmacokinetic and pharmacodynamic properties, drug approval in Germany and availability of reference substances, the analytes were categorized in the next step. The decision was made as to whether the substance should be included in the method and, if so, whether only an analysis for the parent substance, only the metabolite or for the parent substance and metabolite should be carried out.

The method should be developed on an LC-MS/MS instrument. Therefore, all 143 analytes were infused into the mass spectrometer one after the other and optimal settings were determined for the most sensitive detection of the substances. For the development of the liquid chromatography method, different mobile phases, gradients, run times as well as columns were tested. Finally, four methods (A, B, C and D) were developed to ensure adequate separation of the many substances, with analytes from method A and B each measured in a gradient run of 20 minutes and analytes from method C and D each measured in a gradient run of eight minutes. Separation was performed on a biphenyl column with a length of 10 cm for all four methods.

Afterwards, dilution tests and different solid phase materials were compared for the extraction of urine samples. Finally, the substances of methods A, B and C were extracted via Chromabond® HLB SPE material and the substances of method D via Chromabond® HR-XA SPE material. A total of 2 mL of urine is required for the analysis of a DFC case and the extracts are measured with a total run time of 56 minutes.

The validation of the newly developed qualitative screening method followed. Here, especially the test for matrix effects was a great challenge. By diluting the extracts again before injection, matrix effects could once more be significantly reduced. Nevertheless, a few analytes continued to show strong ion-suppression or ion-enhancement. Despite this, the newly developed method allowed to determine a very good sensitivity for most of the 143 substances with limits of detection lower than 5 ng/mL, thus achieving the detection limits as recommended by the SOFT.

Subsequently, the new method was performed on real suspected DFC cases from the Institute of Forensic Medicine Hamburg. A total of 166 suspected DFC cases from 2017 to April 2020 were included in the study. In addition to the evaluation of the cases with regard to demographic data, the focus was on the substances detected with the newly developed method. Thus, in 60 of 166 cases (36.1 %) one or more substances could be detected by the new method. Most frequently, representatives from the group of benzodiazepines (n= 14) but also morphine (n= 13) and cetirizine (n= 12) could be detected. From the group of psychotropic drugs, citalopram (n= 5),

fluoxetine (n= 4) and pipamperone (n= 4) were mostly verified. In contrast, GHB was measurable in concentrations above the physiological range in only three cases (1.8 %).

Besides that, the retrospective study of the suspected DFC cases revealed a high prevalence for illegal drugs (36.1 %), alcohol was detected in 26 % of the cases.

For the most part, it was not possible to determine from the case data whether substances, such as illegal drugs, were ingested voluntarily, or whether other substances corresponded to the victim's medication, for example. This clearly showed that a detailed questioning of the victim, including the medical history on medication, is particularly important for the interpretation of toxicological results.

The focus of the work was on the development of a very sensitive screening method for qualitative detection of a wide range of potential "knockout"-substances in urine samples. Since the investigation of suspected DFC cases is primarily concerned with the question of which substances may have been ingested unnoticed by the victims, qualitative analysis is sufficient.

All substances being detected by the previously used methods were also confirmed with the newly developed method. Thus, it could be shown that the new method, despite the limitation to 143 analytes, is in no way inferior to a general unknown screening by means of GC-MS, since the new method is directed towards the substances that are particularly relevant for DFC cases. In addition, other previously undetected substances were also identified with the newly developed method. It could thus be shown that even very small traces of analytes could be detected. Especially if a lot of time has passed between the incident and the sample collection, the highest possible sensitivity is of great importance.

In summary, it can be said that potential "knockout"-substances could be detected very sensitively with the newly developed method, and that the methods A, B and C have now been included into laboratory routine due to their practicability, thus replacing previously used methods investigating suspected DFC cases.

In the future, new case reports and developments in the drug market (prescription and illegal substances) should continue to receive attention in order to keep the newly developed method up to date.

3 Einleitung

3.1 K.-o.-Tropfen: Definition

Unter dem Begriff „K.-o.-Mittel“, auch als „Date-Rape Drugs“ bezeichnet, werden zentral wirksame Drogen und Medikamente verstanden, die missbräuchlich bei Sexualstraftaten oder Raubdelikten verabreicht werden. Durch ihre sedierende, hypnotische Wirkung wird eine Bewusstseinsbeeinträchtigung und Willenlosigkeit des Opfers mit häufig gleichzeitigem Erinnerungsverlust herbeigeführt (Mußhoff & Madea 2008).

3.2 Historische Entwicklung

Eine besondere Stellung unter den K.-o.-Mitteln nimmt Alkohol ein, da er schon seit Jahrhunderten als solches Verwendung findet. K.-o.-Substanzen werden heute häufig in alkoholischen Getränken verabreicht, wobei der Alkohol nicht zuletzt als Interaktionspartner zur Verstärkung der Wirkung eine wichtige Rolle spielt (Schütz et al. 2011 (1)).

Durch die Entwicklung vieler neuer synthetisch hergestellter Arzneistoffe ab der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts wurden die klassischen K.-o.-Mittel wie Chloroform und Diethylether weitestgehend verdrängt. Es fanden vor allem Benzodiazepine und Neuroleptika eine schnelle Verbreitung (Schütz et al. 2001 (2)). Später folgte auch der Einsatz anderer psychotrop wirksamer Arzneistoffe, zum Beispiel der von Opioiden, Trizyklischen Antidepressiva oder Ketamin. Prinzipiell kommen beinahe alle zentral wirksamen Substanzen als mögliche K.-o.-Mittel in Betracht, insbesondere die Vertreter der großen Gruppe der Psychopharmaka (Mußhoff & Madea 2008).

Über den Zeitraum der letzten zehn Jahre wurde in vielen Ländern ein Anstieg der K.-o.-Mittel Fälle verzeichnet (Olszewski 2008). Doch geht man davon aus, dass aufgrund von Erinnerungsverlust und Scham der Geschädigten viele Fälle nicht zur Anzeige gebracht werden, ist mit einer hohen Dunkelziffer zu rechnen.

So hielt 2007 die Parlamentarische Versammlung des Europarates in ihrer Empfehlung 1777, „Sexual assaults linked to date-rape drugs“ fest: „There is a need to raise awareness of date-rape drugs across the whole of Europe, both in the general public and among law-enforcement agencies. Appropriate assistance must be made available to victims of sexual assault linked to date-rape drugs, as well as support and encouragement to make use of this.“

Des Weiteren wurde empfohlen, die als K.-o.-Mittel verwendeten Substanzen zu listen und der Überwachung zu unterstellen (Europarat 2007).

2011 veröffentlichten die Vereinten Nationen Richtlinien zur forensischen Analyse von DFSA („drug facilitated sexual assault“) -Fällen. Es wurde darauf aufmerksam gemacht, dass zentral wirksame Substanzen häufig wie starke Alkoholintoxikationen wirken. Dieses lässt die Polizei annehmen, dass

die Geschädigten betrunken sind, ohne eine mögliche K.-o.-Mittel-Verabreichung in Betracht zu ziehen. Außerdem wurde festgehalten, dass der Fokus in der Öffentlichkeit nur auf wenigen Substanzen wie GHB, Ketamin oder Rohypnol® (Flunitrazepam) liegt. Doch weiß man, dass die Täter ebenso andere, zum Teil auch die ihnen verschriebenen Medikamente verwenden, um ihre Opfer außer Gefecht zu setzen (Vereinte Nationen 2011).

3.3 Als K.-o.-Tropfen einsetzbare Substanzen

Die Substanzauswahl für den möglichen Einsatz als K.-o.-Mittel ist sehr vielfältig. Im Folgenden werden die wichtigsten Substanzklassen beschrieben.

3.3.1 Opioide

Opioide weisen unter anderem analgetische, sedative und dysphorische Wirkungen durch Interaktion mit Opioid-Rezeptoren auf (Freissmuth 2020). Präsynaptisch kommt es zur Hemmung der Adenylylcyclase sowie der Neurotransmitter-Freisetzung und zur Blockierung spannungsabhängiger Calcium-Kanäle. Postsynaptisch erfolgt eine Hyperpolarisation durch Öffnung der Kalium-Kanäle (Mutschler 2020). Die Erregbarkeit der Neuronen wird schließlich herabgesetzt (Steinhilber 2010).

Die verschiedenen Vertreter der Opioide weisen unterschiedliche Affinitäten an den Opioid-Rezeptoren auf, sodass Wirkungen wie Analgesie, Euphorie und Sedierung unterschiedlich stark ausgeprägt sind. Eine gleichzeitige Aufnahme von anderen zentral dämpfenden Substanzen oder Alkohol führt zu einer Potenzierung der Wirkungen mit der Gefahr von lebensbedrohlichen Zuständen wie Koma und Atemdepression (Freissmuth 2020).

3.3.2 Benzodiazepine und Z-Substanzen

Benzodiazepine wurden in den 60er Jahren eingeführt und finden bis heute Verwendung als Hypnotika, Tranquilizer, Antikonvulsiva und Sedativa (Mußhoff & Madea 2008). Ihr Angriff erfolgt am GABA-System, wobei es zu einer Verstärkung der hemmenden Funktion GABAerger Neurone kommt. Benzodiazepine binden dabei an der alpha-Untereinheit der GABA_A-Rezeptoren, wobei sich die Öffnungswahrscheinlichkeit von Chloridionen-Kanälen erhöht. Der vermehrte Einstrom von Chloridionen in die Zellen führt zur Hyperpolarisation, mit der Folge einer verminderten Erregbarkeit der Zellen (Aktories 2017).

Aufgrund der raschen Verteilung im systemischen Kreislauf und dem dadurch bedingten schnellen Wirkungseintritt finden Benzodiazepine auch Verwendung als K.-o.-Mittel. Ein weiterer Grund ist die Wirkverstärkung durch die gleichzeitige Aufnahme von Alkohol, denn Ethanol verfügt ebenfalls über eine modulatorische Bindungsstelle am GABA_A-Rezeptor (Steinhilber 2010).

Weiterhin ist das Auslösen einer anterograden Amnesie ein typisches Merkmal der Benzodiazepine (Freissmuth 2020). So kommt es zu einem Gedächtnisverlust für eine bestimmte Zeit nach dem

Wirkungseintritt, wobei dieser Zustand nicht unmittelbar mit einem völligen Bewusstseinsverlust einhergehen muss (Mußhoff & Madea 2008).

Die Z-Substanzen Zolpidem, Zopiclon und Zaleplon wirken wie die Benzodiazepine anxiolytisch, schlafanstoßend und muskelrelaxierend. Sie greifen als selektive Agonisten an der alpha-1-Untereinheit der GABA_A-Rezeptoren an (Mutschler 2020).

3.3.3 Antihistaminika

Aufgrund ihrer Lipophilie können H1-Rezeptor-Antagonisten der ersten Generation wie Doxylamin und Diphenhydramin die Blut-Hirn-Schranke gut passieren und gelangen so in das zentrale Nervensystem. Dort kommt es zur Blockade von H1-Rezeptoren, woraus sich die sedierende, hypnotische Wirkung ableitet. Die meisten Antihistaminika sind nicht verschreibungspflichtige Präparate, wodurch die Beschaffung für den Einsatz als K.-o.-Mittel sehr einfach ist. (Mutschler 2020)

3.3.4 Myotonolytika

Die Substanzen aus der Gruppe der Myotonolytika, also zentral wirksamen Muskelrelaxantien, wirken durch verschiedene pharmakologische Angriffspunkte dämpfend, wobei die Verringerung des Muskeltonus erreicht wird. Baclofen zum Beispiel wirkt als spezifischer Agonist an GABA_B-Rezeptoren im Gehirn und Rückenmark. Somit wird präsynaptisch die Transmitterfreisetzung gehemmt und postsynaptisch eine Hyperpolarisation ausgelöst, in Folge dessen der Muskeltonus sinkt (Freissmuth 2020). Tizanidin ist dagegen ein Agonist an alpha-2-Adrenorezeptoren im Rückenmark, wodurch schließlich die Ausschüttung exzitatorischer Neurotransmitter gehemmt wird (Steinhilber 2010). Flupirtin, als zentral wirkendes nicht-Opioid-Analgetikum, gehört ebenfalls zu den Myotonolytika, da es durch Öffnung von Kalium-Kanälen und daraus resultierender Stabilisierung des Ruhemembranpotentials die Schmerzweiterleitung im Rückenmark unterdrückt (Aktories 2017). Methocarbamol hemmt wiederum die polysynaptische Reflexleitung im Rückenmark sowie subkortikale Zentren (Fachinfo: Methocarbamol, Stand 2017). Trotz verschiedener pharmakologischer Angriffspunkte weisen die Myotonolytika unerwünschte Wirkungen wie Schwindel, Benommenheit, Müdigkeit bis hin zu Sedierung, Verwirrtheit, aber auch Halluzinationen auf (Freissmuth 2020).

3.3.5 Barbiturate

Barbiturate - als Schlafmittel der ersten Hälfte der 1900er Jahre - wurden aufgrund ihrer geringen therapeutischen Breite ab circa 1963 von den Benzodiazepinen verdrängt (Reichl 2009). Heute finden noch Primidon und Phenobarbital Anwendung als Antiepileptika, Methohexital und Thiopental als Narkotika (Freissmuth 2020). Die Wirkung erfolgt wie bei Benzodiazepinen über das GABAerge System. Dabei werden GABA_A-Rezeptoren durch allosterischen Angriff an der beta-Untereinheit direkt

aktiviert. Die Öffnung der Chloridionen-Kanäle wird verlängert und daraus resultierend die Erregbarkeit der Zellen verringert (Steinhilber 2010).

Je nach Dosierung führt die Einnahme von Barbituraten zur Einschränkung psychomotorischer Fähigkeiten bis hin zu einer starken Sedierung und Bewusstlosigkeit sowie zum Tod durch Atemdepression (Aktories 2017).

3.3.6 Psychopharmaka

In der Gruppe der Psychopharmaka wird eine große Anzahl an Substanzen zusammengefasst, welche unter anderem Einsatz bei der Behandlung schizophrener Psychosen, bipolarer affektiver Störungen, Depressionen sowie Unruhe- und Angstzuständen finden.

(Typische) Neuroleptika, auch als Antipsychotika bezeichnet, wirken vorwiegend als kompetitive Hemmstoffe an postsynaptischen Dopamin-2-Rezeptoren. Atypische Neuroleptika (außer Quetiapin) weisen dagegen deutlich höhere Affinitäten an 5-HT_{2A}-Rezeptoren auf. So wird die antipsychotische Wirkung sowohl durch die Blockade des Dopamin-2-Rezeptors als auch des Serotonin-Rezeptors (5-HT_{2A}) als essentiell angesehen (Freissmuth 2020). Die Substanzen der Typischen und Atypischen Neuroleptika weisen ein großes Nebenwirkungsspektrum auf. Die sedierende Wirkung leitet sich dabei von der H1-Rezeptor-Blockade ab, die durch unterschiedliche Affinitäten der einzelnen Substanzen mehr oder weniger stark ausgeprägt ist (Aktories 2017).

Trizyklische Antidepressiva, benannt nach ihrer chemischen Struktur, stellen die älteste Gruppe der Antidepressiva dar (Freissmuth 2020). Sie hemmen die neuronale Wiederaufnahme von Serotonin und/oder Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt. Zusätzlich wirken sie auch an anderen Neurorezeptoren als Antagonisten, wobei sich auch hier wieder die Sedierung mit der H1-Rezeptor-Blockade erklären lässt (Steinhilber 2010).

Heutzutage finden Antidepressiva Einteilung nach ihrem Wirkmechanismus (Freissmuth 2020). Die stimmungsaufhellende Wirkung wird den gesteigerten Konzentrationen der Neurotransmitter Noradrenalin und Serotonin zugeschrieben, die sich durch unterschiedliche Angriffspunkte der Wirkstoffe erzielen lassen. So werden hauptsächlich die Transporter für Noradrenalin und Serotonin durch selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren (SSRI) wie zum Beispiel Citalopram und Fluoxetin, durch selektive Serotonin-Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren (SNRI) wie Duloxetin und Venlafaxin sowie durch selektive Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren (NARI) wie Atomoxetin und Reboxetin blockiert (Freissmuth 2020). In der Literatur wird die Sedierung durch die Einnahme von SSRI, SNRI und NARI als kaum ausgeprägt beschrieben, was sich mit den geringen Affinitäten der Wirkstoffe am H1-Rezeptor erklären lässt (Aktories 2017). Doch werden in den Fachinformationen der Wirkstoffe Somnolenz (einschließlich Sedierung) als häufige bis sehr häufige unerwünschte Wirkungen

aufgeführt (z.B Fachinfo: Citalopram, Stand 2019; Duloxetin, Stand 2018; Reboxetin, Stand 2019). Darüber hinaus wird von der gleichzeitigen Aufnahme von Alkohol abgeraten, da eine Verstärkung von Nebenwirkungen nicht ausgeschlossen werden kann.

Tetrazyklische Antidepressiva wie Mirtazapin und Mianserin blockieren präsynaptisch Alpha-2-Adrenorezeptoren, wobei es zu einem Konzentrationsanstieg von Noradrenalin und Serotonin im synaptischen Spalt kommt (Aktories 2017). Sie werden auch als noradrenerge und spezifisch-serotonerge Antagonisten (NaSSA) bezeichnet (Freissmuth 2020). Die sedierenden Eigenschaften der beiden Substanzen lassen sich auf die gleichzeitige Blockade der H1-Rezeptoren zurückführen (Mutschler 2020).

Das Antidementivum Memantin ist ein nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist, d.h. nur bereits aktivierte Rezeptoren können gehemmt werden (Freissmuth 2020). Typische Nebenwirkungen wie Schwindel und Schläfrigkeit gehen mit der Einnahme einher (Dreher 2015). Der in der Parkinson-Therapie eingesetzte Wirkstoff Amantadin hemmt unter anderem die Freisetzung von Acetylcholin durch die Blockade am NMDA-Rezeptor. So wird die Sedierung hier durch die anticholinerge Wirkung hervorgerufen. (Fachinfo: Amantadin, Stand 2019)

3.3.7 Antikonvulsiva

Die meisten Antikonvulsiva greifen an spannungsabhängigen Natrium- oder Calcium-Kanälen an. Die damit einhergehende verminderte Depolarisation der Zellen verhindert schließlich die Erregungsausbreitung in den Zellen (Aktories 2017). Werden exzitatorische Neurone zum Beispiel durch die Antagonisierung von Glutamat gehemmt (Felbamat, Topiramate) oder inhibitorische Neurone durch verminderten GABA-Abbau aktiviert, nimmt die Erregbarkeit der Zellen ebenfalls ab. Trotz verschiedener pharmakologischer Angriffspunkte weisen alle Antikonvulsiva Nebenwirkungen wie Sedierung, Konzentrationsschwäche und Antriebsminderung auf (Freissmuth 2020).

3.3.8 Weitere Substanzen

Chloralhydrat, das älteste synthetische Schlafmittel, findet seit 1869 in Deutschland Anwendung (Steinhilber 2010). Im Körper wird es durch die Alkoholdehydrogenase rasch zu Trichlorethanol umgewandelt, welches eigentlich für die hypnotische Wirkung verantwortlich ist. Es wird davon ausgegangen, dass wie beim Ethanol der inhibitorische GABA_A-Rezeptor beeinflusst wird (Steinhilber 2010). Weiterhin wird das Trichlorethanol zur pharmakologisch unwirksamen Trichloressigsäure verstoffwechselt (Mutschler 2020).

Clomethiazol, ebenfalls ein Hypnotikum, wird heutzutage bei Personen im Delirium tremens angewendet, ausgelöst durch Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenentzug sowie bei anderen starken

Erregungszuständen (Mutschler 2020). Clomethiazol ist ebenfalls ein Modulator am GABA_A-Rezeptor, infolge dessen die GABAerge Neurotransmission verstärkt wird (Freissmuth 2020).

Die gleichzeitige Aufnahme von Alkohol oder anderen zentral dämpfenden Wirkstoffen ist bei der Anwendung von Chloralhydrat und Clomethiazol kontraindiziert, da es zu einer Verstärkung der Sedation kommt und die Gefahr einer Atemlähmung steigt (Freissmuth 2020).

Im Vergleich zu Benzodiazepinen weisen beide Substanzen eine deutlich höhere Toxizität auf und haben ein höheres Abhängigkeitspotential. Aufgrund dessen werden Chloralhydrat und Clomethiazol heute kaum noch als Schlafmittel angewendet (Freissmuth 2020).

Die Injektionsnarkotika Etomidat und Propofol führen durch allosterische Bindung zu einer Steigerung der Aktivitäten von GABA_A- und Glycin-Rezeptoren. Die pharmakologischen Wirkungen beider Substanzen sind vergleichbar mit denen der Barbiturate (Freissmuth 2020). Nach Injektion von Etomidat oder Propofol verlieren die Patienten rasch das Bewusstsein, Reflexe werden gedämpft und das Erinnerungsvermögen eingeschränkt (Amnesie). Eine Analgesie wird unter der Wirkung dieser Substanzen nicht hervorgerufen (Mutschler 2020).

Ketamin, ein weiteres Narkotikum, besitzt dagegen eine starke analgetische Wirkkomponente. Hierbei handelt es sich um einen nichtkompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten (Steinhilber 2010). Unter der Wirkung von Ketamin kommt es zu keiner echten Narkose, sondern zu einer sogenannten „dissoziativen Anästhesie“ (Mutschler 2020). Nach Einmalapplikation wird eine kurze Bewusstlosigkeit mit Amnesie herbeigeführt, bei erhaltenen Rachenreflexen. Währenddessen zeigen die Patienten völlige Teilnahmslosigkeit, fehlende Reaktionen auf Schmerzreize, unwillkürliche Bewegungen sowie offene Augen (Freissmuth 2020). In der Aufwachphase kann es zu Halluzinationen oder unangenehmen Träumen kommen. Aufgrund der beschriebenen dissoziativen, analgetischen und halluzinogenen Eigenschaften wird Ketamin auch häufig missbräuchlich angewendet (Olsen 2018).

Clonidin, ein Antisymphotonikum, wirkt als Agonist an alpha-2-Adrenorezeptoren in der Medulla oblongata des zentralen Nervensystems und findet Anwendung als Antihypertensivum (Aktories 2017). Doch aufgrund seiner gleichzeitig analgetischen und sedierenden Eigenschaften wird Clonidin auch in der Intensivmedizin, in der Prämedikation vor Narkosen sowie zur Linderung des Opiat- und Alkoholentzugssyndrom eingesetzt (Aktories 2017). Die Wirkung von Alkohol, Hypnotika und Neuroleptika wird durch die gleichzeitige Aufnahme von Clonidin verstärkt (Mutschler 2020) und die Gefahr des Auftretens einer Bradykardie, einer Hypotonie, eines Koma oder eines Atemstillstands steigt (Olsen 2018).

Dextromethorphan und Pentoxyverin, zwei freiverkäufliche Wirkstoffe, werden therapeutisch als Hustenstiller angewendet (Aktories 2017). Dextromethorphan ist das 3-Methoxy-Derivat des Opioids Levorphanol, wirkt aber selbst nicht an Opioid-Rezeptoren (Fachinfo: Dextromethorphan, Stand 2016).

Dextromethorphan unterdrückt den Hustenreflex durch eine zentrale Hemmung des Atemzentrums, gleichzeitig greift es als nicht-kompetitiver Antagonist an NMDA-Rezeptoren an (Aktories 2017). Bei der Biotransformation von Dextromethorphan wird über das Enzym CYP2D6 der Metabolit Dextrorphan gebildet, welcher ebenfalls pharmakologisch aktiv ist (Aktories 2017). Dextromethorphan findet auch missbräuchlich Anwendung, da es in hohen Dosierungen sedierend, halluzinogen und euphorisierend wirkt, sowie, ähnlich dem Ketamin, dissoziative Zustände auslösen kann (Bechtel & Holstege 2007). Pentoxyverin hemmt zum einen das Hustenzentrum im Stammhirn und zum anderen sensible Rezeptoren im Bronchialtrakt (Aktories 2017). Darüber hinaus weist Pentoxyverin leichte spasmolytische und anticholinerge Eigenschaften auf (Fachinfo: Pentoxyverin, Stand 2015). Durch die gleichzeitige Aufnahme mit Alkohol oder anderer zentral dämpfender Arzneimitteln werden die sedierenden und atemdepressiven Wirkungen von Pentoxyverin verstärkt (Fachinfo: Pentoxyverin, Stand 2015).

Scopolamin (L-Hyoscin) und Atropin (Racemat aus D- und L-Hyoscyamin) sind natürliche Alkaloide und die Hauptinhaltsstoffe der Nachtschattengewächse wie Tollkirsche, Stechapfel oder Bilsenkraut (Aktories 2017). Die beiden Parasympatholytika hemmen als kompetitive Antagonisten die Bindung des freigesetzten Acetylcholins an den Muskarin-Rezeptoren (Mutschler 2020). Pharmakologischen Einsatz findet Scopolamin als transdermales Pflaster bei Reisekrankheit (Kintz 2014), Atropin wird in der Narkoseprämedikation, bei bradykarden Herzrhythmusstörungen sowie als Antidot bei Vergiftungen mit Parasympathomimetika angewendet (Fachinfo: Atropin, Stand 2003). Anticholinerge Wirkungen wie Sprachstörungen, Unruhe, Halluzinationen, Verwirrtheit, Krämpfe, Amnesie, Koma bis hin zu Atemlähmung werden durch eine gleichzeitige Aufnahme von Antihistaminika, Neuroleptika, trizyklische Antidepressiva oder durch Alkohol verstärkt (Fachinfo: Scopolamin, Stand 2011; Atropin, Stand 2003).

GHB (Gammahydroxybuttersäure) wurde in den 1960er Jahren als Anästhetikum eingeführt, doch aufgrund von Nebenwirkungen wie Myoklonien und Emergence Delir (eine postoperative Bewusstseinsstörung) überwiegend durch andere Wirkstoffe ersetzt (Olsen 2018). Heute findet GHB unter anderem in der Narkolepsitherapie Einsatz (Mutschler 2020). Seit März 2002 unterliegt GHB in Deutschland dem Betäubungsmittelgesetz der Anlage 3 (zu § 1 Abs. 1), verkehrsfähige und verschreibungsfähige Betäubungsmittel (BtMG, Stand 14.01.2021). Dies trifft nicht auf ihre Vorläufersubstanzen GBL (Gammabutyrolacton) und 1,4-Butandiol zu, welche jeweils im Körper rasch zu GHB umgewandelt werden und hauptsächlich Anwendung in der Industrie finden (LeBeau & Mozayani 2001). Nach oraler Aufnahme von GHB, GBL bzw. 1,4-Butandiol tritt die Wirkung innerhalb von 15 bis 30 Minuten ein (Olsen 2018). Je nach Dosierung werden durch die starke inhibitorische Wirkung im zentralen Nervensystem Symptome wie Euphorie, Halluzinationen, Bradykardie, Amnesie, Sedierung, tiefe Schläfrigkeit bis hin zu Koma und Atemdepression hervorgerufen (LeBeau & Mozayani 2001). Die

Wirkungen von GHB, GBL und 1,4-Butandiol werden durch die gleichzeitige Aufnahme von Alkohol und anderer zentral dämpfender Substanzen potenziert und damit auch die Gefahr lebensbedrohlicher Zustände erhöht (Olsen 2018).

Strukturell ist GHB mit dem Neurotransmitter GABA verwandt und gleichzeitig selbst ein endogener Neurotransmitter im menschlichen Organismus (Mußhoff & Madea 2008), was die Interpretation von Messergebnissen erheblich erschwert, auch aufgrund der kurzen Halbwertszeit von nur bis zu einer Stunde (Baselt 2017).

3.4 Strafrechtliche Verfolgung

In Deutschland erfüllt die Beibringung von K.-o.-Mitteln (laut Strafgesetzbuch die „Beibringung von Gift oder gesundheitsschädlichen Stoffen“) den Tatbestand der gefährlichen Körperverletzung nach den §§ 223, 224 Abs. 1 Nr. 1 StGB.

Nicht selten erfolgt eine K.-o.-Mittel-Beibringung mit der Intention Anschlussstraftaten wie Sexual- oder Raubdelikte zu ermöglichen. Im Falle eines Sexualdeliktes wird der Tatbestand „Sexueller Übergriff; sexuelle Nötigung; Vergewaltigung“ nach § 177 StGB erfüllt, worunter auch der sexuelle Missbrauch einer widerstandsunfähigen Person fällt. Werden potentielle K.-o.-Substanzen durch das Opfer zwar freiwillig aufgenommen, das Opfer jedoch unwissend über die sexuellen Absichten des Täters ist, so wird ebenfalls nach § 177 StGB ermittelt.

Eine K.-o.-Mittel-Beibringung mit anschließendem Raub wird in Deutschland nach § 250 StGB („Schwerer Raub“) in Tateinheit mit § 224 StGB („Gefährliche Körperverletzung“) bestraft.

3.5 Untersuchungsmaterialien: Blut vs. Urin vs. Haare

Die Untersuchung von K.-o.-Verdachtsfällen geht mit einigen Herausforderungen einher. Der Faktor Zeit spielt hierbei eine ganz entscheidende Rolle. So ergeben sich zwischen der K.-o.-Mittel-Beibringung und dem Anvertrauen der Geschädigten an Polizei oder Ärztinnen und Ärzte aufgrund von anterograder Amnesie oder auch Schamgefühlen häufig große zeitliche Verzögerungen bei der Probenasservierung (LeBeau 2008). Unter den Aspekten, dass potentielle K.-o.-Mittel in geringen Dosierungen verabreicht werden, in diesem Zusammenhang einmalig von den Geschädigten aufgenommen werden und die Substanzen mitunter nur kurze Halbwertszeiten aufweisen, wird der Nachweis potentieller K.-o.-Substanzen umso schwieriger, je größer das Zeitintervall zwischen Tatzeit und Probenasservierung ist (Kintz 2014). Generell sollte in K.-o.-Fragestellungen die schnellstmögliche Asservierung von Probenmaterial in der ersten Phase der Ermittlungen gewährleistet sein (Kintz 2014). Urinproben stellen hierbei das Asservat der Wahl dar, da Substanzen und ihre Metabolite in deutlich höheren Konzentrationen im Urin präsent sind und über einen längeren Zeitraum ausgeschieden werden (LeBeau & Mozayani 2001). LeBeau 2008 empfiehlt zwischen Tatzeit und Probenasservierung

ein maximales Zeitfenster von 96 Stunden, Kintz 2014 sogar einen Zeitraum von bis zu 120 Stunden. Bis zur toxikologischen Untersuchung sollte der Urin mindestens kühl gelagert, besser noch tiefgekühlt werden, um mögliche Instabilitäten zu minimieren bzw. zu vermeiden (Stimpfl et al. 2009).

Werden K.-o.-Verdachtsfälle schon kurz nach dem Vorfall angezeigt, erweist sich auch die Untersuchung einer Blutprobe als sinnvoll, doch empfiehlt sich eine Blutentnahme nur in den ersten 24 Stunden nach der möglichen K.-o.-Mittel-Beibringung (LeBeau & Mozayani 2001). In diesen Fällen sollte jedoch auf die Untersuchung einer Urinprobe nicht verzichtet werden. Die parallele Analyse von Blut- und Urinproben kann hierbei ein besseres Bild des K.-o.-Verdachtsfalls ermöglichen (LeBeau 2008).

In manchen Fällen stellen aber weder Blut- noch Urinproben ein geeignetes Asservat zur Untersuchung dar. Vertrauen sich die Geschädigten erst Wochen bis Monate später einer Ärztin oder einem Arzt an, oder erstatten Anzeige bei der Polizei, lassen sich potentielle K.-o.-Substanzen nicht mehr im Blut oder Urin nachweisen (LeBeau 2008). In diesen Fällen kann die Untersuchung einer Haarprobe in Betracht gezogen werden. Hierbei muss das zu untersuchende Haarsegment hinsichtlich des Vorfallszeitpunktes eingegrenzt werden und die Detektion einer potentiellen K.-o.-Substanz sollte in den Segmenten, die den Zeitraum vor und nach dem Vorfall darstellen, nicht detektierbar sein. Der Nachweis potentieller K.-o.-Substanzen in Haarproben stellt insgesamt eine große Herausforderung an die Labore, da aufgrund der geringen Inkorporationsraten der Substanzen im Haar sehr sensitive Analysemethoden verwendet werden müssen und eine einmalige Aufnahme nicht zwingend detektierbar ist (Kintz 2014).

4 Fragestellung

Die Verabreichung von K.-o.-Substanzen beschränkt sich nicht nur, wie in den Medien häufig verbreitet, auf einzelne Wirkstoffe. Eine Vielzahl freiverkäuflicher und verschreibungspflichtiger Substanzen sowie illegale Betäubungsmittel und Alkohol können eingesetzt werden, um eine Wehrlosigkeit einer Person herbeizuführen.

Bisher gibt es keine verbindlichen internationalen oder nationalen Vorgaben für Laboratorien, in welchem Umfang toxikologische Untersuchungen in K.-o.-Verdachtsfällen durchzuführen sind.

Das DFC-Komitee der Society of Forensic Toxicology (SOFT) publizierte 2009 eine Empfehlung, auf welche Substanzen im Fall einer K.-o.-Mittel-Beibringung untersucht und mit welchen Nachweisgrenzen die Detektion der Analyten gewährleistet werden sollte.

In dieser wissenschaftlichen Arbeit sollte eine Screening-Methode auf potentielle K.-o.-Substanzen entwickelt werden. Ziel war es, dass die Methode sowohl eine einfache Probenvorbereitung, die Erfassung möglichst vieler potentieller K.-o.-Substanzen, als auch eine sensitive qualitative Detektion

ermöglicht. Aufgrund der häufig zeitlichen Verzögerungen zwischen Vorfall und Probenasservierung wurde entschieden, die Untersuchung in Urinproben durchzuführen.

Um die von der SOFT empfohlenen, niedrigen Nachweisgrenzen zu erreichen, sollte die Analytik auf einem Tandem-Massenspektrometer gekoppelt mit Ultrahochdruckflüssigkeitschromatographie (LC-MS/MS) entstehen. Die Methode sollte abschließend gemäß der Richtlinien der GTFCh validiert werden.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war es, die entwickelte Methode in die Routine des Hamburger Instituts für Rechtsmedizin zur Untersuchung von K.-o.-Verdachtsfällen zu etablieren. Dafür wurde eine retrospektive Studie an realen K.-o.-Verdachtsfällen durchgeführt. Hierbei sollte untersucht werden, ob sich mit der neu entwickelten Methode potentielle K.-o.-Substanzen nachweisen ließen, die mit bisher angewendeten Methoden nicht erfasst wurden. Gleichzeitig sollten sich bisher detektierte Substanzen mit der neu entwickelten Methode ebenfalls bestätigen lassen.

5 Materialien

5.1 Chemikalien

- 10 M Kaliumhydroxidlösung (KOH): 56,11 g in 100 mL Wasser
- 0,1 M Essigsäure: 580 µL Eisessig in 100 mL Wasser
- Acetat-Puffer: 28,5 mL Eisessig in 1000 mL Wasser, mit 10 M KOH eingestellt auf pH 4
- Aceton p.a., J.T. Baker®, Fisher Scientific GmbH, Gliwice, Poland
- Ameisensäure, LiChrosolv®, 98 % - 100 % for LC-MS, Merck, Darmstadt
- Ammoniumformiat, Additiva für LS-MS, Fluka Analytical, Sigma Aldrich, Steinheim
- Dichlormethan, EMSURE®, Merck, Darmstadt
- Essigsäure (Eisessig) 100 % p.a., Merck, Darmstadt
- Ethylacetat, EMSURE®, Merck, Darmstadt
- Kaliumdihydrogenphosphat, EMSURE®, Merck, Darmstadt
- Kaliumhydroxid, Merck, Darmstadt
- Methanol, LC-MS Chromasolv™, Honeywell/ Riedel-de Haën™, Seelze
- Methanol p.a., J.T. Baker®, Fisher Scientific GmbH, Gliwice, Poland
- Pufferlösung pH 6,88 ± 0,02 (20 °C) ROTI® Calipure, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
- Triethylamin, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Wasser, LiChrosolv® für Chromatographie (LC-MS), Merck, Darmstadt
- β-Glucuronidase (E. coli K12), Roche Diagnostics GmbH, Mannheim

Referenz-Substanzen:

- 7-Aminoclonazepam, 1 mg/mL in 1mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- 7-Aminoflunitrazepam, 1 mg/mL in 1mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- 7-Aminonitrazepam, 1 mg/mL in 1mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- 7-Hydroxyquetiapin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- 9-Hydroxyrisperidon, 10 mg, LGC, Luckenwalde
- Alpha-Hydroxyalprazolam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Alpha-Hydroxybromazepam, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Lipomed GmbH, Weil am Rhein
- Alpha-Hydroxymidazolam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Alprazolam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim

- Amantadin, ca. 100 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Amisulprid, 1 mg/mL in Methanol, Lipomed GmbH, Weil am Rhein
- Atomoxetin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Atropin, 1 mg/mL in 1mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Baclofen, 1mg/mL (ACN/H₂O 1:1) Lipomed GmbH, Weil am Rhein
- Benperidol, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Bromazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Carbamazepin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Cetirizin Dihydrochlorid, 50 mg, Sigma Aldrich, Steinheim
- Chlordiazepoxid, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Chlorpheniramin Maleat, 1 mg/mL (als freie Base) in Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Chlorprothixen Hydrochlorid, 1 g, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Citalopram Hydrobromid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Clobazam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Clomethiazol Hydrochlorid, 5 mg, LGC, Luckenwalde
- Clomipramin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Clonidin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Clorazepat Dikaliumsals, 1 mg freie Base in 1 mL Methanol Lipomed GmbH, Weil am Rhein
- Clozapin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Codein, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dehydroaripiprazol, 1 mg/mL in 1 mL Methanol w/5 % 1N HCl, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dehydronorketamin Hydrochlorid, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Demoxepam, 1 mg/mL in 1mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Desalkylflurazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Desmethylolanzapin Dihydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Acetonitril:Wasser (1:1), Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dextromethorphan, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dextrorphan Tartrat, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Diazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Diazepam-d5, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dihydrocodein Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dihydrocodein-d6 Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dimetinden, ca. 50 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Diphenhydramin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Dosulepin Hydrochlorid, ca. 100 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Doxylamin Succinat, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- EDDP Perchlorat, 1mg/mL (als Pyrolium) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Estazolam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Ethosuximid, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg

- Etomidat, 1 mg/mL Methanol, LGC GmbH, Luckenwalde
- Felbamat, 2 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Flunitrazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Fluoxetin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Flupentixol Dihydrochlorid, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Fluphenazin Dihydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Flupirtin, 25 mg, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Fluvoxamin Maleat, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Gabapentin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- GHB Natriumsalz, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- GHB-d6 Natriumsalz, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Haloperidol, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Hydrocodon, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Hydrocodon-d3, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Hydromorphon, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Hydroxyzin Dihydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Imipramin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Ketamin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Ketamin-d4 Hydrochlorid, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Lamotrigin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Levetiracetam, 5 mg, Toronto Research Chemicals Inc., North York, Canada
- Levomepromazin Maleat, 1 mg/mL in Methanol (als freie Base) LGC GmbH, Luckenwalde
- Levomepromazinsulfoxid, 10 mg, LGC, Luckenwalde
- Lorazepam, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Lorazepam-d4, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Lormetazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Maprotilin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Medazepam, 1 mg freie Base/ 1 mL Acetonitril, Lipomed GmbH, Weil am Rhein
- Melperon, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Memantin Hydrochlorid, 25 mg, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Meperidin (Pethidin), 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Methadon, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Methadon-d9, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Methocarbamol, 1 g, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Mianserin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Midazolam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Midazolam-d4 Maleat, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Mirtazapin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Morphin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Morphin-d3, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nalbuphin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim

- N-Desmethylocitalopram Hydrochlorid, 10 mg, LGC, Luckenwalde
- N-Desmethyloclobazam, 100 µg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- N-Desmethylnortazapin Dihydrochlorid, 1 mg/mL, Toronto Research Chemicals Inc., North York, Canada
- N-Desmethylnortazapin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nitrazepam, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norclozapin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norcodein, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nordazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nordazepam-d5, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nordiphenhydramin Hydrochlorid, 10 mg, LGC, Luckenwalde
- Nordoxepin (cis/trans), 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norfluoxetin Oxalat, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norhydrocodon Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norketamin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norketamin-d4 Hydrochlorid, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Normeperidin (Norpethidin), 100 µg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Normianserin Hydrochlorid, 10 mg, LGC, Luckenwalde
- Norpropoxyphen Maleat, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Norsertralin Hydrochlorid, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nortilidin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Nortriptylin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- O-Desmethyltramadol Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- O-Desmethylvenlafaxin, 10 mg, LGC, Luckenwalde
- Olanzapin, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Olanzapin-d8, 100 µg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Opipramol Dihydrochlorid, 25 mg, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Oxazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Oxycodon, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Oxymorphon, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Paroxetin Maleat, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Pentazocin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Pentobarbital, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Pentobarbital-d5, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Pentoxyverin Citrat, 1 g, UCB, Pharmazeutischer Sektor Belgien
- Perazin Dimaleat, 1 mg/mL (als freie Base) in Dimethylsulfoxid, LGC, Luckenwalde
- Perphenazin, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Perphenazinsulfoxid, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Phenazepam, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Phenobarbital, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Phenobarbital-d5, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim

- Phenytoin, 100 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Pimozid, 1 g, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Pipamperon Dihydrochlorid, 10 mg, Toronto Research Chemicals Inc., Toronto, Canada
- Pregabalin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Primidon, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Promethazinsulfoxid, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Propoxyphen, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Prothipendyl Hydrochlorid Monohydrat, 5 mg, LGC, Luckenwalde
- Quetiapin-d8 Fumarat, 1 mg/mL, Toronto Research Chemicals Inc., North York, Canada
- Reboxetin, 0,1002 g, Pharmaola & Upjohn Inc., Kalamazoo, MI, USA
- Risperidon, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Scopolamin Hydrobromid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Acetonitril:Wasser (1:1), Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Sulpirid, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Tapentadol Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Temazepam, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Thioridazin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Tiaprid Hydrochlorid, 60 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Tiaprid-N-oxid, ca. 20 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Tilidin-d6 Hydrochlorid, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Tizanidin Hydrochlorid, 100 mg, CRS European Pharmacopoeia Reference Standard, Strasbourg
- Topiramamat, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Tramadol Hydrochlorid, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Trichloressigsäure, 1000 µg/mL in Methyl-tert-butyl-Ether, Bellefonte, PA, USA
- Trimipramin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Valproinsäure, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Venlafaxin Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Venlafaxin-d6 Hydrochlorid, 100 µg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Vigabatrin, 1 mg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Ziprasidon Hydrochlorid, 1 mg/mL (als freie Base) in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Zolpidem Tartrat, 1 mg/mL in Methanol, LGC, Luckenwalde
- Zolpidem-d6, 100 µg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Zolpidem-phenyl-4-carboxylic-acid, 500 µg/mL in 1 mL Acetonitril : Wasser / 50:50, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Zopiclon, 1 mg/mL in 1 mL Acetonitril, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Zopiclon-N-oxid, 100 µg/mL in 1 mL Methanol, Cerilliant®, Sigma-Aldrich, Steinheim
- Zuclopenthixol Hydrochlorid, 10 mg, LGC, Luckenwalde

5.2 Geräte

Trennsäulen:

- ACQUITY UPLC BEH C18 Säule, 130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 50 mm, Waters, Milford, USA
- ACQUITY UPLC BEH C18 Säule, 130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm, Waters, Milford, USA
- Raptor™ Biphenyl, 2,7 µm, 100 x 2,1 mm, Restek, Bellefonte, PA, USA
- Raptor™ C18, 2,7 µm, 100 x 2,1 mm, Restek, Bellefonte, PA, USA

Waagen:

- ML 203 E, New Classic MF Mettler-Toledo GmbH, Gießen
- MSX Cubis® Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG, Göttingen

Zentrifugen:

- Centrifuge 5424R, Eppendorf, Hamburg
- Kühlfalle CT02-50, Martin Christ GmbH, Osterode
- Rotanta 460, Hettich Lab Technology, Tuttlingen
- RVC 2-25 CD plus, Martin Christ GmbH, Osterode

LS-MS/MS:

- Acquity UPLC®, I-Class, Waters, Milford, USA
- TQ-S Massenspektrometer, Waters, Milford, USA

Weitere Geräte:

- Brutschrank, Heraeus, Kendro, Langenselbold
- Mix Mate, Eppendorf, Hamburg
- Vortex Genie2, Scientific Industries, New York, USA

5.3 Verbrauchsmaterialien

- Bond Elut C18, 100 mg, 1 mL, Agilent Technologies, Waldbronn
- Bond ELut SPEC DAU, 3 mL, Agilent Technologies, Folsom, CA, USA
- Chromabond® HLB, 60 µm, 3 mL, 60 mg, Macherey-Nagel, Düren
- Chromabond® HR-XA, 3 mL, 60 mg, Macherey-Nagel, Düren
- Reagiergefäß 1,5 mL Safe Seal, Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht
- Verex™ Vial 9 mm Screw, v-Vial, Phenomenex®, Aschaffenburg
- Verex™ Cap (pre-assembled) 9 mm w/Bonded-In PTFE/Silicone pre slit septa, blu, Phenomenex®, Aschaffenburg
- Zentrifugenglas, kurzkonischer Boden, ungraduiert, AR-Glas® Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co. KG, Sondheim

5.4 Software

- Target Lynx TQ-S V4.2 SCN982, Software für Datenauswertung
- Mass Lynx TQ-S V4.2 SCN982, Geräte Software LC-MS/MS, Copyright© 2017 Waters Inc.
- Valistat 2.0, ©2011 ARVECON GmbH, Walldorf

6 Methoden

Zur Bearbeitung der Fragestellung erfolgte zuerst durch eine intensive Literaturrecherche die Auswahl der als K.-o.-Mittel geeigneten Wirkstoffe. Nach Überprüfung des Metabolismus der einzelnen Substanzen wurde über die Aufnahme dieser und/oder ihrer Metabolite in die Methode entschieden. Anschließend wurden die Substanzen zur Identifizierung im Massenspektrometer vermessen. Es folgte die Etablierung der chromatographischen Methode sowie die Entwicklung einer geeigneten Extraktionsmethode für Urinproben.

6.1 Auswahl der Substanzen

Die Substanzauswahl erfolgte im ersten Schritt in Anlehnung an eine Veröffentlichung von Madea & Mußhoff 2009 im Deutschen Ärzteblatt sowie an die vom DFC-Komitee der Society of Forensic Toxicology (SOFT) publizierte Empfehlung zur Untersuchung auf potentielle K.-o.-Substanzen (Madea & Mußhoff 2009, Marinetti 2017). Anschließend wurde eine systematische Recherche in der Online-Datenbank PubMed mit den Suchbegriffen DFSA (drug facilitated sexual assault) und DFC (drug facilitated crime) durchgeführt. Literaturstellen bzw. Publikationen wurden hinsichtlich der in K.-o.-Fällen vorkommenden Substanzen ausgewertet.

Nach Erstellung einer ersten Liste mit Wirkstoffen zur Eignung als K.-o.-Mittel erfolgte eine Zusammentragung der Substanzeigenschaften mit Hilfe von Fachinformationen, der Gelben Liste (als Online-Version) und dem Buch von R.C. Baselt „Disposition of Toxic Drugs & Chemicals in Man“ (Baselt 2017).

Je nach Dosierung, Metabolisierung im Körper, Zulassung auf dem deutschen Markt und Verfügbarkeit der Referenzsubstanzen erfolgte eine Einteilung in die Kategorien 0 bis 3 (Tabelle 1). Anhand dieser Kategorien wurde entschieden, welche der Substanzen final in die Analysenmethode aufgenommen werden sollten.

Tabelle 1: Kategorisierung der ausgewählten Substanzen

Kategorie	
0	Kein Nachweis der Substanz notwendig
1	Muttersubstanz in die Methode aufgenommen
2	Metabolit in die Methode aufgenommen
3	Muttersubstanz und Metabolit in die Methode aufgenommen

Herstellung von Stammlösungen

Die ausgewählten Substanzen wurden als Ampullen in den Konzentrationen 1 mg/mL oder 100 µg/mL oder als Feststoff erworben. Die Feststoffe wurden zu 1,0 mg abgewogen und in 1,0 mL Methanol gelöst. Es entstanden Lösungen der Konzentration 1 mg/mL. Alle Lösungen wurden in Braunglasfläschchen bei -20 °C gelagert.

Auswahl interner Standards

Als interne Standards wurden einige deuterierte Substanzen der ausgewählten Analyten verwendet (Tabelle 12 unter 7.3.2). Hierbei wurden die deuterierten Substanzen nach ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften sowie ihrer Verteilung über den gesamten Retentionsbereich ausgewählt. Des Weiteren wurden die Beschaffungskosten mit in die Auswahl einbezogen.

6.2 LC-MS/MS

6.2.1 Messprinzip

Die Entwicklung der Methode erfolgte auf einem LC-MS/MS System. Hierbei handelt es sich um die Kopplung von Flüssigkeitschromatographie mit einem Tandem-Massenspektrometer. Im Folgenden wird auf die Funktionsweise der Anlage eingegangen.

Flüssigkeitschromatographie

Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) findet vor allem bei der Analyse löslicher, fester und flüssiger Substanzen bzw. Gemische Anwendung. Komplexe Probengemische können in einzelne Komponenten getrennt und diese identifiziert und quantifiziert werden (Rücker 2013).

Bei der Flüssigkeitschromatographie wird die zu untersuchende Substanz mit einem Laufmittel (mobile Phase) durch eine Trennsäule (stationäre Phase) gepumpt (Rücker 2013). Je nach Stärke der Wechselwirkungen zwischen Substanzen und stationärer Phase werden die Analyten zu unterschiedlichen Zeiten von der Trennsäule eluiert (Retentionszeiten). In der Praxis ist heutzutage die Umkehrphasenchromatographie die gängigste Methode. Hierfür werden polare stationäre Phasen, aus Silicagel-Partikeln bestehend, mit einer unpolaren Schicht aus zum Beispiel Alkanen überzogen. Mit der daraus entstandenen Verringerung der Polarität nimmt nun die Elutionskraft der mobilen Phasen mit steigender Polarität ab (Rücker 2013). In der Umkehrphasenchromatographie finden Wasser, Acetonitril und Methanol häufig Anwendung als mobile Phase (Waters Corporation 2020). Die Trennung kann entweder isokratisch erfolgen, das heißt, die Zusammensetzung des Laufmittel-Gemisches bleibt über die Laufzeit unverändert oder über einen Gradientenlauf, indem sich durch die Veränderung der Zusammensetzung des Laufmittel-Gemisches während der Laufzeit die Polarität der mobilen Phase ändert (Rücker 2013).

Mit dem Trend der Kosteneinsparungen, verkürzter Analysenzeiten aber gleichzeitig verbesserter Analysenqualität wurden die HPLC-Anlagen weiterentwickelt und 2004 wurde die erste UHPLC-Anlage auf den Markt gebracht (Waters™ 2020). Mit der Ultrahochdruckflüssigkeitschromatographie (UHPLC) war es nun möglich die Geschwindigkeit und Effizienz chromatographischer Trennungen zu verbessern, unter anderem durch die Verwendung von Trennsäulen mit kleineren Partikeldurchmessern von 2,2 bis 1,7 µm. Die damit einhergehenden höheren Drücke werden von den UHPLC-Anlagen bis 18000 Psi gewährleistet. Sehr kleine Probenvolumina von 0,5 bis 2 µL, kleinere Flussraten und verkürzte Analysenzeiten tragen ebenfalls zur erhöhten Effizienz bei (Sheliya & Shah 2013).

Zur Gewährleistung reproduzierbarer Trennungen und stabiler Detektionen werden bei UHPLC-Anlagen hohe Anforderungen an die Pumpen gestellt. Für eine geringe Pulsation und konstante Fließgeschwindigkeiten wird jede Laufmittel-Komponente durch eine eigene Pumpe gefördert und

beide Eluenten unter hohem Druck gemischt. Des Weiteren besitzen UHPLC-Pumpen nur ein geringes Innenvolumen, um eine schnelle Gradientenbildung zu ermöglichen (Sheliya & Shah 2013).

Bei der hier verwendeten UHPLC erfolgt die Injektion der Probe über ein Durchflussnadelsystem, das heißt, die Nadel ist direkter Bestandteil des Hochdruck-Probenflussweges (Abbildung 1, Waters Corporation 2014).

In der Ladungs-Stellung wird die Probe mit einer Spritze in die Nadel gezogen, während durch die anderen zwei Wege im Injektionsventil der Eluent bzw. die Waschlösung direkt zur Trennsäule bzw. zum Abfallbehälter läuft. Anschließend wird in die Injektions-Stellung gewechselt, sodass der Eluent die Probe durch die Nadel in die Trennsäule transportiert (Waters Corporation 2014).

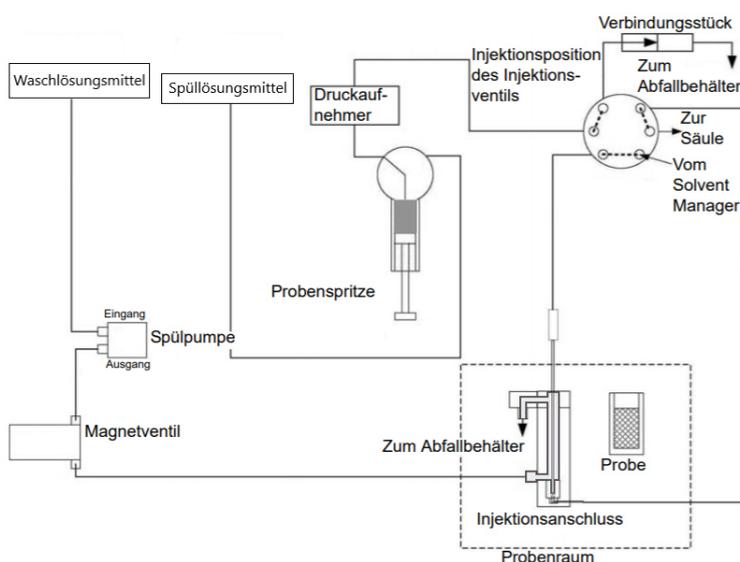


Abbildung 1: Diagramm des Flussweges der verwendeten UHPLC-Anlage (in Anlehnung an Waters Corporation 2020 modifiziert)

Insgesamt ist die optimale Trennung von Substanzen mittels Flüssigkeitschromatographie von vielen Faktoren abhängig, wie der Art der zu analysierenden Substanzen (polar, unpolar, Molekülgröße), der Eigenschaften der verwendeten Trennsäule, der Temperatur, dem pH-Wert sowie der Zusammensetzung der mobilen Phase und der Fließgeschwindigkeit (Sheliya & Shah 2013).

Massenspektrometrie

Die Detektion der getrennten Substanzen erfolgt schließlich durch die Kopplung der UHPLC-Anlage an ein hochauflösendes Tandem-Massenspektrometer.

Grundlegend ist jedes Massenspektrometer aus einem Einlasssystem, einer Ionenquelle und einem Analysator aufgebaut (Rücker 2013). Der Probenfluss wird über eine Kapillare von der UHPLC-Anlage in die Ionisierungskammer des Massenspektrometers eingebracht. Hierbei wird das Elektronenspray-Verfahren angewendet, eine sanfte Ionisationsmethode, bei der der Probenfluss durch eine Kapillare geleitet wird, an der eine Spannung angelegt ist (Gross 2013). Eine der Kapillare gegenüber anliegende

Gegenelektrode führt zur Erzeugung eines elektrischen Feldes in der Ionisierungskammer. Im Probenfluss kommt es zu einer Ladungstrennung, mit der höchsten Ladungsdichte an der Spitze der Kapillare. Der Strahl zerfällt in viele kleine geladene Tröpfchen, die durch die Coulomb-Abstoßung auseinanderdriften, wodurch ein feiner Elektrospray entsteht (Gross 2013). Um aus den geladenen Tröpfchen Ionen zu erzeugen, wird ein Desolvatationsgas, hier Stickstoff, eingesetzt. Hierbei wird die Lösungsmittelverdampfung beschleunigt und die Tröpfchen zerfallen weiter bis hin zur Bildung von desolvatisierten Ionen, die schließlich in den Analysator eingebracht werden. Zur Unterstützung der Ionenerzeugung können den Laufmitteln flüchtige Säuren oder Basen (z.B. Ameisensäure oder Ammoniumhydroxid) zugesetzt werden (Gross 2013). Aus der Weiterentwicklung des ESI-Interface ist unter anderem das Micromass-Z-Spray™-Interface entstanden, eine orthogonale Ausrichtung des ESI-Sprays im Winkel von 90° zum Ioneneinlass in den Analysator (Abbildung 2, Gross 2013).

Diese Ausrichtung ermöglicht eine Reduzierung von Verunreinigungen durch nicht flüchtige Bestandteile (z.B. Puffersalze) aufgrund der räumlichen Trennung zwischen dem Ioneneinlass und der Stelle, an der diese Bestandteile niederschlagen. Weiterhin wird großen, weniger stark geladenen Tröpfchen durch eine unzureichende Anziehung im Extraktionsfeld der Durchtritt in den Analysator verhindert (Gross 2013).

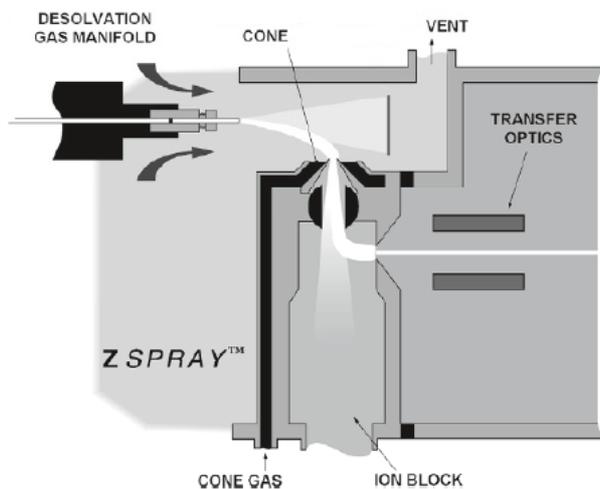


Abbildung 2: ESI-Interface Z-Spray™ - Darstellung des verwendeten Ionenspray-Verfahrens (in Anlehnung an Gross 2013 modifiziert) (Desolvation Gas Manifold = Desolvatationsgas-Versorgung, Cone = Konus, Vent = Auslass, Cone Gas = Konus-Gas, Ion Block = Ionisationsquelle, Transfer Optics = Ionentransferoptik)

Als Analysator finden hier zwei Quadrupole Anwendung (Tandem-Massenspektrometrie).

Ein Quadrupol besteht aus vier zylindrisch geformten Stabelektroden, in quadratischer Anordnung, wobei die gegenüberliegenden Stäbe miteinander leitend verbunden sind und durch das Anlegen einer Wechselspannung positive und negative elektrische Felder abwechselnd aufgebaut werden.

Da das elektrische Feld an der Mittelachse der Elektroden Null ist, kann ein Ion das Stabsystem durchqueren ohne dieses zu berühren (Gross 2013).

Im Quadrupol 1 (MS1) werden die Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) selektiert und in die Kollisionszelle weitergeleitet. Durch das Anlegen einer Kollisionsenergie (0 bis 100 eV) und das Zuführen eines Kollisionsgases (Argon) entstehen aus den Ionen der ausgewählten m/z -Zahl Fragment-Ionen, die im Anschluss in den Quadrupol 2 (MS2) überführt werden und ebenfalls nach ihrem m/z -Verhältnis selektiert werden (Waters Corporation 2020). Abbildung 3 zeigt den schematischen Aufbau des verwendeten Massenspektrometers. Die Detektion erfolgt über einen Photomultiplier-Tube-Detektor (Photoelektronenvervielfacher-Röhre) und wird über die Software in eine graphische Darstellung umgewandelt.

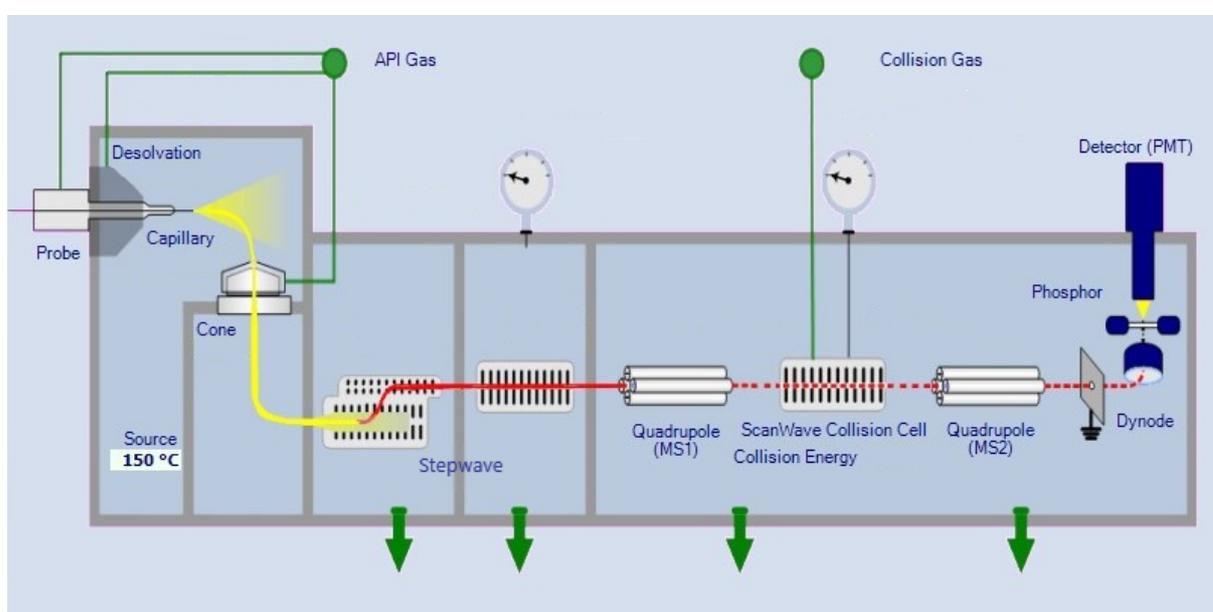


Abbildung 3: Aufbau des verwendeten Massenspektrometers (in Anlehnung an Mass Lynx TQ-S V4.2 SCN982 modifiziert) (Desolvation = Desolvatation, Capillary = Kapillare, Cone = Konus, Source = Quelle, API (Atmospheric pressure ionization) Gas = Ionisationsgas bei Atmosphärendruck (Stickstoff), Collision Gas = Kollisionsgas (Argon), Stepwave S™ = Ionentransferoptik, ScanWave Collision Cell = Kollisionszelle, Collision Energy = Kollisionsenergie, PMT (Photomultiplier-Tube) Detector = Detektor (Photoelektronenvervielfacher-Röhre), Quadrupole = Quadrupol)

Die Masse-zu-Ladungs-Zahl (m/z) beschreibt die Atommasse pro Anzahl Elementarteilchen. Es handelt sich hier um eine dimensionslose Größe. Daneben findet auch häufig die Atomare Masseneinheit, auch als Dalton bezeichnet, in der Einheit u oder Da Verwendung. Handelt es sich um einfach geladene Ionen, sind die m/z -Zahl und die Atomare Masseneinheit gleichwertig (Murray et al. 2013). In einem Massenspektrum wird die Signalintensität gegen die m/z -Zahl dargestellt.

Im gesamten Massenspektrometer ist ein Hochvakuum angelegt, um den Weg der Ionen zwischen Ionenquelle und Detektor ohne Abweichungen zu gewährleisten sowie zur Verminderung ungewollter Fragmentierungen durch Ionen-Kollisionen (Budzikiewicz 2012).

Aus der Kopplung von Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie lassen sich Ionenchromatogramme darstellen, d.h. jede Komponente eines Gemisches wird nach ihrer Retentionszeit in einem Chromatogramm erfasst, wobei gleichzeitig jeder Komponente ein aufgezeichnetes Massenspektrum hinterlegt ist (Gross 2013). Die Quantifizierung einer Komponente erfolgt aus der Fläche unter dem Peak.

Die Anwendung von LC-MS/MS-Systemen ermöglicht eine hohe Selektivität und niedrige Nachweisgrenzen für eine qualitative und quantitative Erfassung von Analyten aus komplexen Matrices und wurde für die Bearbeitung der vorliegenden Fragestellung als bestgeeignete Analysenmethode ausgewählt (Gross 2013).

6.2.2 Tuning (Massenspektrometrie)

Im Vergleich zu Systemen der Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS) gibt es für LC-MS/MS-Systeme keine allgemeingültigen, geräteunabhängigen Datenbanken, die einer Analysenauswertung zur Verfügung stehen. Unter dem Tuning von Analyten versteht man die Detektion dieser im Massenspektrometer mit möglichst hoher Intensität (Separation Science 2020). Im Hinblick auf gewünschte niedrige Nachweisgrenzen werden durch Feineinstellungen wie Spannungen, Temperaturen, Cone-Energien und Gasflüsse optimale Bedingungen für die Detektion der Analyten geschaffen, wobei die Sensitivität der Auflösung im Vordergrund steht (Separation Science 2020). Die Daten jedes zu untersuchenden Analyten werden dem LC-MS/MS-System in einem „MS-File“ hinterlegt und bei der Vermessung von Proben abgerufen.

Herstellung von Tune-Lösungen

Aus den Stammlösungen der Substanzen wurden Tune-Lösungen der Konzentration 1000 ng/mL sowie 100 ng/mL hergestellt. Hierfür erfolgte eine 1 zu 1000 Verdünnung der 1 mg/mL Stammlösung oder eine 1 zu 100 Verdünnung der 100 µg/mL Stammlösung.

Anschließend wurde die so entstandene 1000 ng/mL Tune-Lösung zu einer 100 ng/mL Tune-Lösung 1 zu 10 verdünnt. Alle Lösungen wurden in Methanol angesetzt und in Braunglasfläschchen bei -20 °C gelagert.

Die hergestellten Tune-Lösungen wurden in das Massenspektrometer direkt infundiert. Hierbei wurde ein Laufmittelfluss über den Bypass der UHPLC von 0,3 mL/min mit 90 % A1 (Wasser + 0,1 % FAC) und 10 % B1 (Methanol + 0,1 % FAC) zugeschaltet.

Für jede Substanz erfolgte ein MS- (Mutterionen-) sowie Daughter-Scan (Tochterionen-Scan) im positiven oder negativen Ionenmodus. Pro Analyt wurden zwei MRM-Übergänge, für jede deuterierte Substanz wurde ein MRM-Übergang festgelegt.

Tuning Parameter: positiver Ionenmodus (ESI +)

Kapillarspannung: 0,8 kV
Quellenspannung: 50,0 V
Quellentemperatur: 150 °C
Desolvationstemperatur: 600 °C
Konus-Gasfluss: 150 L/Hr
Desolvationsgasfluss: 1000 L/Hr
Kollisionsgasfluss: 0,15 mL/min
Zerstäuber-Gasfluss: 7,0 bar
LM1 Auflösung: 2,8
HM1 Auflösung: 14,61
Ionenenergie 1: 0,2
LM2 Auslösung: 2,76
HM2 Auslösung: 15,0
Ionenenergie 2: 1,0

Tuning Parameter: negativer Ionenmodus (ESI -)

Kapillarspannung: 2,5 kV
Quellenspannung: 50,0 V
Quellentemperatur: 150 °C
Desolvationstemperatur: 300 °C
Konus-Gasfluss: 150 L/Hr
Desolvationsgasfluss: 800 L/Hr
Kollisionsgasfluss: 0,15 mL/min
Zerstäuber-Gasfluss: 7,0 bar
LM1 Auflösung: 2,5
HM1 Auslösung: 15,0
Ionenenergie 1: 1,5
LM2 Auflösung: 3,0
HM2 Auflösung: 14,8
Ionenenergie 2: 2,0

6.2.3 Chromatographie

Für eine optimale Trennung sowie gute Peakformen der Analyten wurden mehrere chromatographische Varianten ausprobiert. Hierbei wurden die Gradienten 1 bis 6 sowie die isokratischen Zusammensetzungen (Tabelle 2) jeweils mit den Laufmitteln A1/B1 und A2/B2 mit den unten beschriebenen drei Chromatographie-Säulen angewendet.

Laufmittel

A1: Wasser + 0,1 % FAc
B1: Methanol + 0,1 % FAc

A2: Wasser + 2 mM Ammoniumformiat + 0,1 % FAc
B2: Methanol + 2 mM Ammoniumformiat + 0,1 % FAc

Chromatographie-Säulen

AQUITY UPLC BEH-C18 (50 mm + 150 mm): Es handelt sich um einen trifunktionellen C18 Ligandentyp (BEH = bridged ethyl-siloxane hybrid structure). Die Säule ist in einem pH-Bereich von 1,0 bis 12,0 einsetzbar (Waters Corporation, AQUITY UPLC Säulen Broschüre, Stand 2015).

Raptor™ Biphenyl (2,7 µm, 100 x 2,1 mm): Das Säulenmaterial besteht aus Core-Shell Kieselgelpartikeln mit Biphenylgruppen als Ligandentyp. Der Arbeitsbereich liegt bei pH 1,5 bis 8,0 (Restek Raptor™ Biphenyl Broschüre, Stand 2018).

Raptor™ C18 (100 µm): Die Core-Shell Kieselgelpartikel mit C18-Ketten-Liganden sind in einem pH-Bereich von 2,0 bis 8,0 einsetzbar (Restek Raptor™ C18 Broschüre Stand 2018).

Tabelle 2: Gradienten 1 bis 6 und isokratische Zusammensetzungen

Gradient 1 Fluss: 0,6 mL/min		Gradient 2 Fluss a): 0,6 mL/min Fluss b): 0,3 mL/min		Gradient 3 Fluss: 0,6 mL/min		Isokratisch Fluss: 0,3 mL/min Laufzeit: je 8 min	
Zeit (min)	% B	Zeit (min)	% B	Zeit (min)	% B	A (%)	B (%)
0,00	5	0,00	35	0,00	5	95	5
9,00	50	3,50	70	9,00	40	90	10
18,00	100	6,00	100	18,00	80	85	15
18,01	5	6,01	35	18,01	5	80	20
20,00	5	8,00	35	20,00	5	75	25
						70	30
						65	35
						60	40
						55	45
						50	50
						45	55
						40	60
						35	65
						30	70

Gradient 4 Fluss: 0,6 mL/min		Gradient 5 Fluss: 0,5 mL/min		Gradient 6 Fluss: 0,3 mL/min	
Zeit (min)	% B	Zeit (min)	% B	Zeit (min)	% B
0,00	5	0,00	0	0,00 bis 1,80	5
9,00	100	3,00	90	4,50	50
10,00	100	4,00	90	7,00	100
10,01	5	4,10	0	7,01	5
12,00	5	5,50	0	8,00	5

6.3 Probenvorbereitung

Zur Ermittlung einer möglichst optimalen Extraktionsmethode der Analyten aus Urinproben wurden Verdünnungsversuche und Festphasenextraktion über verschiedene SPE-Säulen miteinander verglichen.

6.3.1 Verdünnungsversuche

Herstellung von Standard-Lösungen für die Verdünnungsversuche

Jeweils 5 µL der 1 mg/mL Stammlösung oder 50 µL der 100 µg/mL Stammlösung wurden in einen 1 mL Messkolben pipettiert und mit Methanol aufgefüllt. Es entstand eine Standard-Lösung der Konzentration 5 ng/µL.

Für die deuterierten Substanzen wurde eine eigene Lösung der Konzentration der 5 ng/μL hergestellt. Aus der deuterierten Lösung entstand nach 1 zu 50 Verdünnung eine weitere Lösung der Konzentration 0,1 ng/μL. Alle Lösungen wurden bei -20 °C gelagert.

Zur Prüfung, ob eine Verdünnung der Urinproben eine ausreichende Probenvorbereitung darstellt, wurden verschiedene Verdünnungen (Tabelle 3) durchgeführt und im Anschluss vermessen.

Jeweils 1 mL Leerurin wurden in einem Zentrifugenglas mit 4 μL Standard-Lösung (Konzentration A: 20 ng/mL) und 20 μL Standard-Lösung (Konzentration B: 100 ng/mL) dotiert, gemischt und 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Die Urinproben wurden bei der weiteren Aufarbeitung mit deuterierter Standard-Lösung dotiert, sodass eine Endkonzentration von 50 ng/mL entstand.

Tabelle 3: Verdünnungsreihe der Urinproben

Verdünnung	1 zu 2	1 zu 5	1 zu 10	1 zu 20	1 zu 50
Urinmenge (Konzentration A und B)	500 μL	200 μL	100 μL	50 μL	20 μL
Puffer (pH 6,88)	-	300 μL	400 μL	450 μL	480 μL
Deuterierte Lösung (verwendete Konzentration)	5 μL (5 ng/μL)	2 μL (5 ng/μL)	50 μL (0,1 ng/μL)	25 μL (0,1 ng/μL)	10 μL (0,1 ng/μL)
Zugabe 5 μL β-Glucuronidase (E. coli) Inkubation bei 47 °C für 3 Stunden					
Methanol	495 μL	498 μL	450 μL	475 μL	490 μL
mischen, zentrifugieren (3000 rpm, 5 min)					

Jeweils 500 μL Überstand wurden in ein v-Vial abgefüllt und mit einem pre-Slit Deckel verschlossen. 10 μL Probenvolumen wurden in das LC-MS/MS-System injiziert.

6.3.2 Extraktion mittels Festphasen (SPE)

Herstellung von Standard-Lösungen für die Festphasenextraktion

Aus den Analyten Pregabalin, Levetiracetam, Ethosuximid, Topiramamat, Phenobarbital, Pentobarbital, Primidon und Felbamat wurden durch 1 zu 10 Verdünnung der 1 mg/mL Stammlösungen jeweils Standard-Lösungen der Konzentration 100 ng/mL hergestellt.

Vigabatrin, Valproinsäure, GHB und die deuterierten Substanzen GHB-d6, Phenobarbital-d5 und Pentobarbital-d5 wurden direkt als 1 mg/mL Stammlösungen verwendet.

Alle anderen Analyten wurden in ihrer Substanzklasse jeweils zu einer Standard-Lösung zusammengefasst. Hierfür wurden 10 μL der 1 mg/mL Stammlösung oder 100 μL der 100 μg/mL Stammlösung in einen 1 mL Messkolben pipettiert und mit Methanol aufgefüllt. Es entstanden Standard-Lösungen der Konzentration 10 ng/μL.

Für die deuterierten Substanzen wurde eine eigene Lösung der Konzentration 10 ng/μL hergestellt.

Aus der deuterierten Lösung entstand nach 1 zu 10 Verdünnung eine weitere der Konzentration 1 ng/ μ L. Die Lagerung aller Standard-Lösungen erfolgte in Braunglasfläschchen bei -20 °C.

SPE-Säulen

DAU-SPEC: Das silicabasierte Sorptionsmittel, auf eine Glasfaserscheibe aufgebracht, ermöglicht die Extraktion unpolarer Analyten sowie einen Ionenaustausch (Agilent Technologies, Stand 2011).

Bond Elut C18: Es handelt sich um ein Siliciumdioxid-Sorptionsmittel, welches sehr gut für die Extraktion unpolarer Verbindungen geeignet ist (Agilent Technologies, Stand 2011).

Chromabond® HLB: Die HLB (Hydrophile-Lipophile Balance) SPE ist ein N-Vinylpyrrolidon-Divinylbenzol-Copolymer. Sie ermöglicht die Retention polarer und unpolarer Substanzen (Macherey-Nagel, Stand 2018).

Chromabond® HRXA: Hier handelt es sich um einen starken quaternären Ammonium-modifizierten polymeren Anionentauscher, der speziell für die Extraktion saurer Analyten geeignet ist (Macherey-Nagel, Stand 2018).

Mit Standard versetzte Urinproben wurden über verschiedene Festphasen extrahiert und die Extrakte vermessen.

A): 500 μ L Leerurin wurden in einem 1,5 mL Eppendorf-Röhrchen mit Standard- und deuterierter Lösung dotiert. Nach Zugabe von 25 μ L β -Glucuronidase-Lösung aus E. coli wurde die Probe gemischt und bei 47 °C über 3 Stunden inkubiert. Der Probe wurden 500 μ L einer 125 M Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung (eingestellt mit 10 M KOH-Lösung auf pH 6,88) zugesetzt, danach wurde 5 Minuten geschüttelt und 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde auf die konditionierte SPE-Säule gegeben und lief ohne Vakuum durch die Säule (Tabelle 4).

B): 1 mL Leerurin wurde in einem Zentrifugenglas mit Standard- und deuterierter Lösung dotiert. Nach Zugabe von 50 μ L Pufferlösung pH 6,88 (siehe 5.1) und 25 μ L β -Glucuronidase-Lösung aus E. coli wurde die Probe gemischt und bei 47 °C über 3 Stunden inkubiert. Der Probe wurde anschließend 1 mL Acetat-Puffer pH 4 (siehe 5.1) zugesetzt, sie wurde erneut gemischt und 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde auf die konditionierte SPE-Säule gegeben und lief ohne Vakuum durch die Säule (Tabelle 4).

C) und D): 1 mL Leerurin wurde in einem Zentrifugenglas mit Standard- und deuterierter Lösung dotiert. Nach Zugabe von 25 μ L β -Glucuronidase-Lösung aus E. coli wurde die Probe gemischt und bei 47 °C über 3 Stunden inkubiert. Die Probe wurde anschließend erneut gemischt und 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde auf die konditionierte SPE-Säule gegeben und lief ohne Vakuum durch die Säule (Tabelle 4).

Tabelle 4: Festphasenextraktion

	A)	B)	C)	D)
SPE	DAU-SPEC / Bond Elut C18	DAU-SPEC / HLB	HLB	HR-XA
Konditionierung	1 mL MeOH 1 mL H ₂ O	1 mL/ 3 mL MeOH 1 mL/ 3 mL H ₂ O	3 mL MeOH 3 mL H ₂ O	3 mL MeOH 3 mL H ₂ O
Probenaufgabe				
Waschen	2x 1 mL H ₂ O	1 mL/ 3 mL H ₂ O 1 mL/3 mL Essigsäure (0,1 M) 1 mL/ 3 mL H ₂ O	3 mL H ₂ O	a) 3 mL H ₂ O oder b) 2 mL NaOH (1 M)
Trocknen 10 Minuten unter Vakkum				
Elution	600 µL Aceton	1 mL Gemisch*	a) 1 mL MeOH oder b) 1 mL Gemisch*	1 mL MeOH 1 mL 6 % Essigsäure in MeOH

* Gemisch: 40 % Ethylacetat, 60 % Dichlormethan, 4 % Triethylamin

Das Eluat wurde in einer Vakuumzentrifuge bei 20 °C zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit 400 µL Wasser + 0,1 % FAc und 100 µL Methanol + 0,1 % FAc rekonstituiert.

10 µL des Extraktes wurden über den Probengeber in das LC-MS/MS-System injiziert.

6.4 Ermittlung der finalen Methode

Die finale Methode wurde nach den Kriterien einer optimalen Trennung - zur Gewährleistung einer eindeutigen Identifizierung aller Analyten - sowie praktikabler Analysenzeiten im Hinblick auf die Etablierung in die Routineanalytik ermittelt. Weiterhin musste das Auftreten von Interferenzen aufgrund der hohen Anzahl an Substanzen ausgeschlossen werden.

Die Auswahl der finalen Extraktionsmethode sollte einen möglichst einfachen und schnellen Urinaufschluss mit gleichzeitig niedriger Nachweisgrenze ermöglichen.

6.4.1 Überprüfung der Leistungsfähigkeit der finalen Methode

Für die entwickelte Methode wurden selbst dotierte Kontrollproben (Tabelle 5) aufgearbeitet und damit die Methode auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft.

Tabelle 5: Dotierung der Kontrollproben

1 mL Urin	Substanzen/Substanzgemische	Pipettierschema	Endkonzentration	
Methode A	Opioide	je 2 µl von 10 ng/µl	20 ng/mL	
	Benzodiazepine			
	Antihistaminika			
	Myotonolytika			
	Andere Substanzen			
	deuterierte Substanzen	10 µl von 1 ng/µL	10 ng/mL	
Methode B	Atypische Neuroleptika	je 2 µl von 10 ng/µl	20 ng/mL	
	Trizyklische Antidepressiva (TCA)			
	Neuroleptika			
	Rest Psychopharmaka			
		Zuclopenthixol	5 µL von 10 ng/µL	50 ng/mL
		Amantadin/Memantin/Atomoxetin	4 µL von 10 ng/µL	40 ng/mL
		Carbamazepin/Gabapentin/Lamotrigin/Phenytoin	2 µl von 10 ng/µL	20 ng/mL
		Pregabalin	je 2 µL von 100 ng/µL	200 ng/mL
		Levetiracetam		
		Ethosuximid	5 µL von 100 ng/µL	500 ng/mL
		Topiramamat	10 µL von 100 ng/µL	1000 ng/mL
		deuterierte Substanzen	10 µL von 1 ng/mL	10 ng/mL
Methode C	Phenobarbital/Pentobarbital	7,5 µL von 100 ng/µL	750 ng/mL	
	Primidon	je 5 µL von 100 ng/µL	500 ng/mL	
	Felbamat			
		Vigabatrin	4 µL von 1 mg/mL	4000 ng/mL
		deuterierte Substanzen	2,5 µL von 1 mg/mL	2500 ng/mL
Methode D	GHB	10 µL von 1 mg/mL	10000 ng/mL	
	Valproinsäure	5 µL von 1 mg/mL	5000 ng/mL	
	GHB-d6	30 µL von 1 mg/mL	30000 ng/mL	

6.5 Methodenvalidierung

Die entwickelte Methode wurde als qualitative Methode entsprechend der Richtlinie der GTFCh validiert (GTFCh 2009). Folgende Parameter wurden geprüft:

6.5.1 Interferenzen

Jeder Analyt wurde als wässrige Lösung der Konzentration 5 ng/mL einzeln in den Methoden A, B, C und D vermessen. Jeder Injektion eines Analyten folgte eine Leerinjektion mit „Strong Wash“ (25 % Isopropanol, 25 % Methanol, 25 % Wasser, 25 % Acetonitril, 1% Ameisensäure). Es erfolgte eine Auswertung hinsichtlich interferierender Signale eines Analyten auf den Ionenspuren anderer Substanzen. Für die Identifizierung einer bestehenden Interferenz mussten die Retentionszeit und das Ionenverhältnis (Ion Ratio) übereinstimmen sowie das Signal-Rausch-Verhältnis größer drei sein.

6.5.2 Matrixeffekte

Zur Überprüfung der Ionen-Suppression und des -Enhancements wurden Kontrollproben einer niedrigen und einer hohen Konzentration, dotiert in sechs verschiedenen Leerurinen, mit in Wasser dotierten Kontrollproben verglichen. Gemäß der Richtlinie wurden Abweichungen in den Grenzen von 75 % bis 125 % und Standardabweichungen kleiner gleich 25 % akzeptiert. Eine Auswertung der Analyten, deren entsprechende isotonenmarkierte Standards den Proben zugesetzt wurden, erfolgte über das Verhältnis des Analyten zum Internen Standard (Response-Faktor).

Die Kontrollproben wurden mit den Analyten der Methode A und mit den meisten Analyten der Methode B in den Konzentrationen 5 ng/mL und 10 ng/mL bzw. 20 ng/mL und 40 ng/mL dotiert.

Für die Analyten Levetiracetam wurden die Konzentrationen 50 ng/mL und 150 ng/mL, für Pregabalin 40 ng/mL und 120 ng/mL, für Zuclopenthixol 50 ng/mL und 100 ng/mL und für Ethosuximid sowie Topiramamat die Konzentrationen 500 ng/mL und 1000 ng/mL zur Bestimmung der Matrixeffekte gewählt. Die Kontrollproben wurden mit Phenobarbital und Pentobarbital jeweils in den Konzentrationen 750 ng/mL und 1000 ng/mL, mit Primidon und Felbamat in den Konzentrationen 500 ng/mL und 1000 ng/mL und mit Vigabatrin in den Konzentrationen 1000 ng/mL und 2000 ng/mL dotiert. Für die beiden Analyten GHB und Valproinsäure der Methode D wurden die Konzentrationen 20000 ng/mL und 40000 ng/mL gewählt.

6.5.3 Wiederfindung

Die Wiederfindung wurde bestimmt, um die entwickelte Extraktionsmethode auf ihre Effektivität zu überprüfen. Dafür wurden sechs Matrixproben jeweils im oberen und unteren Konzentrationsbereich dotiert, extrahiert und mit aufgestockten Leermatrix-Extrakten verglichen. Die Wiederfindung wurde aus dem Verhältnis der absoluten Signale (Peakflächen) ermittelt und sollte nach den Richtlinien der GTFCh mindestens 50 % betragen (GTFCh 2009).

Die Proben wurden mit den Analyten der Methode A in den Konzentrationen 10 ng/mL und 20 ng/mL und mit den meisten Analyten der Methode B in den Konzentrationen 20 ng/mL und 40 ng/mL dotiert. Für die Analyten Levetiracetam und Pregabalin wurden jeweils die Konzentrationen 100 ng/mL und 200 ng/mL, für Zuclopenthixol 25 ng/mL und 50 ng/mL, für Ethosuximid 250 ng/mL und 500 ng/mL und Topiramamat die Konzentrationen 500 ng/mL und 1000 ng/mL zur Bestimmung der Wiederfindung gewählt.

Die Proben wurden mit Phenobarbital und Pentobarbital jeweils in den Konzentrationen 375 ng/mL und 750 ng/mL, mit Primidon und Felbamat in den Konzentrationen 250 ng/mL und 500 ng/mL und mit Vigabatrin in den Konzentrationen 2000 ng/mL und 4000 ng/mL dotiert. Für die beiden Analyten GHB und Valproinsäure der Methode D wurden die Konzentrationen 10000 ng/mL und 20000 ng/mL gewählt.

Zur Überprüfung der Wiederfindungsraten der deuterierten Standards wurden die Proben in der Konzentration 10 ng/mL der Standards der Methoden A und B dotiert. Für Phenobarbital-d6 und Pentobarbital-d6 wurde jeweils die Konzentration 2500 ng/mL und für GHB-d6 die Konzentration 30000 ng/mL gewählt.

6.5.4 Limit of Detection (Nachweisgrenzen)

Die Nachweisgrenzen der Analyten ließen sich mit dem Programm Valistat 2.0 nach DIN 32646 ermitteln. Hierfür wurden Kalibrationskurven in den zu erwartenden niedrigen Konzentrationsbereichen eines jeden Analyten aufgearbeitet, mit den finalen Methoden gemessen und ausgewertet. Für die Bestimmung der Grenzwerte wurden mindestens fünf Kalibrationspunkte benötigt. Die Auswahl der Konzentrationsbereiche erfolgte orientierend an den von der SOFT vorgeschlagenen Nachweisgrenzen. In einem ersten Schritt wurden Kalibrationskurven von 1 bis 10 ng/mL dotiert. Substanzen, die in diesem Bereich ein Signal-Rausch-Verhältnis kleiner drei aufwiesen, erfüllten nicht die Anforderung für eine sichere Identifizierung. Im nächsten Schritt wurden diese Analyten in einem höheren Konzentrationsbereich erneut vermessen und ausgewertet.

Für die Analyten der Methode A und die meisten Analyten der Methode B wurden für die Ermittlung der Nachweisgrenzen Kalibrationsbereiche von 1 bis 10 ng/mL und 10 bis 100 ng/mL gewählt. Die Kalibrationsgeraden für Ethosuximid, Pregabalin und Levetiracetam wurden in den Konzentrationsbereichen 50 bis 250 ng/mL und für Topiramamat von 250 bis 450 ng/mL dotiert. Phenobarbital und Pentobarbital wurden von 250 bis 2000 ng/mL, Primidon und Felbamat von 50 bis 600 ng/mL und Vigabatrin von 5000 bis 50000 ng/mL kalibriert. Die Dotierung der Analyten der Methode D erfolgte im Konzentrationsbereich von 2000 bis 11000 ng/mL.

6.5.5 Stabilität

Es wurden sechs Kontrollproben aufgearbeitet, mehrfach injiziert und nach 24, 48, 72 und 96 Stunden Lagerung im Kühlraum bei 8 °C erneut vermessen. Anhand der festgestellten Flächenverluste ließen sich Rückschlüsse auf die Stabilität der Analyten in den Extrakten schließen. Dabei wurden maximale Abnahmen der Peakflächen von 25 % toleriert.

6.6 Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg

Die im Zeitraum der Jahre 2017 bis April 2020 im Institut für Rechtsmedizin Hamburg eingegangenen Urinproben mit der Fragestellung Beibringung von K.-o.-Mitteln wurden mit der entwickelten Methode nachuntersucht.

6.6.1 Erstellung des Untersuchungskollektivs

Alle in den Jahren 2017 bis April 2020 im Institut für Rechtsmedizin Hamburg untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle wurden erfasst. Anschließend erfolgte die Zusammenstellung der Urin-Rückstellproben, wobei ein Teil der K.-o.-Fälle nicht mit in die Untersuchung eingeschlossen werden konnten, da nicht genug Material (weniger als 2 mL) für eine Nachuntersuchung zur Verfügung stand.

6.6.2 Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle mit der entwickelten Methode

Die Rückstellproben der K.-o.-Fälle wurden aufgetaut oder dem Kühlschrank entnommen und 1 mL Urin für die Methoden A, B, C sowie 1 mL Urin für Methode D jeweils in einem Zentrifugenglas aliquotiert. Anschließend erfolgte eine Dotierung der Echtproben mit internem Standard (Tabelle 13) und die Proben wurden wie unter Punkt 7.4.1 aufgearbeitet. Aufgrund langer Analysenzeiten und begrenzter Messzeiten konnten pro Serie zehn Echtfälle am LC-MS/MS vermessen werden. Zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit der entwickelten Methode sowie der aktuellen Geräteperformance wurden je Probenserie frisch dotierte Kontrollproben (siehe 6.4.1) gemeinsam mit den Echtproben aufgearbeitet und vermessen. Nach jeder Injektion einer Echtprobe bzw. Kontrollprobe wurde eine Leerinjektion mit „Strong Wash“ geschaltet.

6.6.3 Auswertung der Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle

Die Untersuchungsergebnisse der K.-o.-Fälle wurden nach folgenden Fragestellungen ausgewertet:

- a) Wurden mit der neuen Methode bisher detektierte Substanzen ebenfalls positiv bestätigt? und
- b) Ließen sich weitere Substanzen, die mit vorherigen Methoden nicht detektiert wurden, nachweisen?

Darüber hinaus wurden die demografischen Daten (Alter, Geschlecht) sowie Auftraggeber, Delikt, Vorfallszeit und Zeitpunkt der Probenasservierung aus den Falldaten zusammengetragen und ebenfalls mit in die Auswertung der K.-o.-Fälle eingeschlossen.

7 Ergebnisse

7.1 Auswahl der Substanzen

Nach intensiver Literaturrecherche (PubMed, Baselt 2017, Fachinformationen) entstand eine Substanzliste mit 142 Wirkstoffen unterteilt in elf Stoffgruppen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht der ausgewählten Substanzen mit Eignung als K.-o.-Mittel

Opioide (n= 20)	Benzodiazepine (n= 29)		Anthistaminika (n=6)	Myotonolytika (n=7)	Barbiturate (n= 5)
Alfentanil*	Alprazolam**	Lormetazepam	Cetirizin	Baclofen	Metohexital*
Buprenorphin*	Bromazepam**	Medazepam	Chlorphenamin	Eperison*	Pentobarbital
Codein**	Brotizolam*	Midazolam	Dimetinden	Flupirtin	Phenobarbital
Dihydrocodein**	Chlordiazepoxid	Nitrazepam	Diphenhydramin	Meprobamat*	Primidon
Fentanyl*	Clobazam	Nordazepam**	Doxylamin	Methocarbamol	Thiopental*
Hydrocodon**	Clonazepam	Oxazepam**	Hydroxyzin	Pridinol*	
Hydromorphon**	Clorazepat	Phenazepam		Tizanidin	
Methadon**	Clotiazepam*	Prazepam*			
Morphin**	Diazepam**	Temazepam			
Nalbuphin	Estazolam	Tetraazepam*			
Oxycodon**	Flunitrazepam**	Triazolam			
Pentazocin	Flurazepam	Zaleplon*			
Pethidin	Ketazolam*	Zolpidem			
Piritramid*	Loprazolam*	Zopiclon			
Propoxyphen	Lorazepam**				
Remifentanil*					
Sufentanil*					
Tapentadol					
Tilidin**					
Tramadol**					

TCA (n=10)	Neuroleptika (n= 19)	Atypische Neuroleptika (n=10)	Antikonvulsiva (n= 12)	Rest der Psycho- pharmaka (n= 13)	Andere Substanzen (n= 11)
Amitriptylin	Benperidol	Amisulprid	Carbamazepin	Amantadin	Atropin
Clomipramin	Chlorpromazin*	Aripiprazol	Ethosuximid	Atomoxetin	Chloralhydrat
Desipramin*	Chlorprothixen	Clozapin	Felbamat	Citalopram	Clomethiazol
Dosulepin	Flupentixol	Olanzapin	Gabapentin	Duloxetin*	Clonidin**
Doxepin	Fluphenazin	Quetiapin	Lamotrigin	Fluoxetin	Dextromethorphan**
Imipramin	Fluspirilen*	Risperidon	Levetiracetam	Fluvoxamin	Etomidat*
Maprotilin	Haloperidol	Sertindol*	Phenytoin	Memantin	GHB
Nortriptylin	Levomepromazin	Sulpirid	Pregabalin	Mianserin	Ketamin
Opipramol	Melperon	Ziprasidon	Tiagabin*	Mirtazapin	Pentoxxyverin
Trimipramin	Perazin	Zotepin*	Topiramat	Paroxetin	Propofol*
	Perphenazin		Valproinsäure	Reboxetin	Scopolamin
	Pimozid		Vigabatrin	Sertralin	
	Pipamperon			Venlafaxin	
	Promazin*				
	Promethazin				
	Prothipendyl				
	Thioridazin				
	Tiaprid				
	Zuclopenthixol				

*Substanz nicht in die Methode aufgenommen entsprechend der Kategorie 0, Erklärung dazu unter 7.2.1

**verminderter analytischer Aufwand für die Substanz notwendig, da schon in der Routine etabliert

TCA = Trizyklische Antidepressiva

7.2 Kategorisierung der ausgewählten Substanzen

Die ausgewählten Substanzen wurden anschließend unter Berücksichtigung insbesondere ihrer pharmakologischen und pharmakinetischen Eigenschaften in die folgenden Kategorien eingeteilt:

7.2.1 Kategorie 0

In der Kategorie 0 befinden sich alle Substanzen, die nicht in die Untersuchung mit eingeschlossen wurden (n= 28, Tabelle 7). Hierzu zählen Substanzen, die zwar aufgrund ihrer Wirkungsweise als K.-o.-Mittel in Frage kommen würden, die aber einen hohen First Pass Effekt und eine nachweislich fehlende orale Bioverfügbarkeit aufweisen. Dieses trifft vor allem auf Opioide, wie beispielsweise Sufentanil, Piritramid oder Alfentanil zu. Des Weiteren musste der Wirkstoff als Tablette zur Verfügung stehen. Substanzen, welche nur zur Verabreichung als Injektion (intravenös, intramuskulär oder subkutan), Transdermale Pflaster, Suppositorien sowie Sublingualtabletten erhältlich sind, wurden nicht mit in die Methode aufgenommen. So sind beispielsweise Propofol und Etomidat, eingesetzt als Narkosemittel, nur als Injektionslösungen im Handel (Fachinfo: Propofol, Stand 2016; Etomidat, Stand 2017).

Die Dosierung und die prozentuale Ausscheidung im Urin spielten ebenfalls eine entscheidende Rolle bei der Substanzauswahl. So wurde ein Wirkstoff ausgeschlossen, wenn die Muttersubstanz zu weniger als ein Prozent im Urin ausgeschieden wird, die max. Tagesdosis weniger als 100 mg einschließt und der Metabolit entweder zu dem Zeitpunkt der Methodenentwicklung nicht erwerbbar war oder keine Rückschlüsse auf die Muttersubstanz zulässt. Beispielhaft sind hier vor allem die Benzodiazepine zu nennen, die häufig zu Oxazepam metabolisiert und größtenteils als dieses im Urin ausgeschieden werden.

Des Weiteren sollten in die Untersuchung nur Substanzen mit Zulassung auf dem deutschen Markt eingeschlossen werden. Dies begründet sich im vermehrten Verkehr der Substanzen in Deutschland und somit in der Relevanz für die Untersuchung eingegangener Proben mutmaßlicher Opfer. Acht der zunächst ausgewählten 142 Wirkstoffe sind hier zu Lande nicht mehr zugelassen und fanden daher in der Untersuchung keine Beachtung.

Tabelle 7: Kategorie 0

hoher First Pass Effekt; kaum orale Bioverfügbarkeit; als Tablette nicht verfügbar	Substanz hat keine Zulassung in Deutschland	keine zertifizierte Referenzsubstanz erwerbbar	Muttersubstanz < 1 % ausgeschieden; max. Tagesdosis < 100 mg; Metabolit nicht erwerbbar
Alfentanil Buprenorphin Etomidat Fentanyl Fluspirilen Methohexital Piritramid Propofol Remifentanil Sufentanil Thiopental	Chlorpromazin Desipramin Eperison Meprobamat Pridinol Promazin Tetrazepam Tiagabin	Clotiazepam Sertindol Zotepin	Brotizolam Duloxetine Ketazolam Loprazolam Prazepam Zaleplon

7.2.2 Kategorie 1

In der Kategorie 1 befinden sich alle Wirkstoffe, bei denen nur die Muttersubstanzen untersucht wurden (Tabelle 8). Für die meisten der darin eingeteilten 64 Substanzen waren keine Metaboliten als Referenzmaterial erwerbbar. Die übrigen Arzneistoffe werden kaum oder gar nicht umgewandelt und nur zu weniger als ein Prozent als Metabolit oder hauptsächlich als Glucuronid im Urin ausgeschieden.

Tabelle 8: Kategorie 1

Muttersubstanz ≥ 1 %, Metabolit < 1 % ausgeschieden	Substanz hauptsächlich als Glucuronid ausgeschieden
Clonidin** Dosulepin Gabapentin Pregabalin Trimipramin	Hydromorphon** Lamotrigin Lorazepam** Morphin** Oxazepam** Valproinsäure

**verminderter analytischer Aufwand für die Substanz notwendig, da schon in der Routine etabliert

Metabolit nicht erwerbbar		Muttersubstanz < 1 % ausgeschieden; max. Tagesdosis ≥ 100 mg; Metabolit nicht erwerbbar	Muttersubstanz ≥ 1 % ausgeschieden; max. Tagesdosis < 100 mg; Metabolit nicht erwerbbar
Amantadin	Melperon	Clomethiazol	Atropin
Amisulprid	Methocarbamol	Clomipramin	Benperidol
Atomoxetin	Nortriptylin	Haloperidol	Cetirizin
Baclofen	Opipramol	Imipramin	Chlorphenamin
Carbamazepin	Pentazocin	Thioridazin	Estazolam
Chlorprothixen	Pentobarbital		Memantin
Dihydrocodein**	Pentoxyverin		Nalbuphin
Dimetinden	Perazin		Paroxetin
Doxylamin	Phenazepam		Phenobarbital
Ethosuximid	Phenytoin		Reboxetin
Felbamat	Pimozid		Tizanidin
Flupentixol	Pipamperon		Ziprasidon
Fluphenazin	Prothipendyl		
Flupirtin	Scopolamin		
Fluvoxamin	Sulpirid		
Hydroxyzin	Topiramat		
Levetiracetam	Vigabatrin		
Maprotilin	Zuclopenthixol		

**verminderter analytischer Aufwand für die Substanz notwendig, da schon in der Routine etabliert

7.2.3 Kategorie 2

Für die Arzneistoffe der Kategorie 2 erfolgte nur eine Untersuchung des Metaboliten (n= 11, Tabelle 9). Dafür musste die Muttersubstanz zu weniger als ein Prozent im Urin ausgeschieden werden und die max. Tagesdosis weniger als 100 mg betragen. Des Weiteren musste der dazugehörige Metabolit Rückschlüsse auf die Muttersubstanz zulassen und erwerbbar sein. Laut Fachinformationen sind max. Tagesdosierungen von sechs Substanzen mit mehr als 100 mg angegeben. Damit erfüllten diese sechs Wirkstoffe zwar nicht das zweite Kriterium, fanden nach kritischer Betrachtung dennoch Einteilung in Kategorie 2.

Tabelle 9: Kategorie 2

Muttersubstanz < 1 % ausgeschieden; max. Tagesdosis < 100 mg; Metabolit erwerbbar		Muttersubstanz < 1 % ausgeschieden; max. Tagesdosis ≥ 100 mg; Metabolit erwerbbar	
Aripiprazol	Tilidin**	Amitriptylin	Promethazin
Clonazepam	Triazolam	Chloralhydrat*	Quetiapin
Flurazepam		Doxepin	Sertralin

*nachträglich in Kategorie 0 verschoben

**verminderter analytischer Aufwand für die Substanz notwendig, da schon in der Routine etabliert

7.2.4 Kategorie 3

Bei den Vertretern der Kategorie 3 (n= 39) wurden sowohl die Muttersubstanz als auch der/die Metabolit/e in die Untersuchung mit eingeschlossen (Tabelle 10). Dafür mussten die Analyten zu mehr als ein Prozent im Urin ausgeschieden werden und als zertifizierte Referenzsubstanzen erwerbbar sein.

Tabelle 10: Kategorie 3

Muttersubstanz und Metabolit > 1 % im Urin ausgeschieden		
Alprazolam**	1,4-Butandiol, GBL, GHB	Oxycodon**
Bromazepam**	Hydrocodon**	Perphenazin
Chlordiazepoxid	Ketamin	Pethidin
Citalopram	Levomepromazin	Primidon
Clobazam	Lormetazepam	Propoxyphen
Clorazepat*	Medazepam	Risperidon
Clozapin	Methadon**	Tapentadol
Codein**	Mianserin	Temazepam
Dextromethorphan**	Midazolam	Tiaprid
Diazepam**	Mirtazapin	Tramadol**
Diphenhydramin	Nitrazepam	Venlafaxin
Flunitrazepam**	Nordazepam**	Zolpidem
Fluoxetin	Olanzapin	Zopiclon

*nachträglich in Kategorie 0 verschoben

**verminderter analytischer Aufwand für die Substanz notwendig, da schon in der Routine etabliert

7.3 LC-MS/MS

7.3.1 Tuning

Zum Ausschluss etwaiger Interferenzen wurde jede Substanz einzeln in das Massenspektrometer infundiert. Für jeden Analyten wurden zwei MRM-Übergänge festgelegt, wobei, mit dem Hintergrund einer möglichst sensitiven Erfassung, die zwei Ionenübergänge der höchsten Intensität ausgewählt wurden. Mit den deuterierten Substanzen (interne Standards, Tabelle 12) wurde gleichermaßen verfahren, reduziert auf einen ausgewählten Massenübergang. (siehe Anhang: Tabelle 17) Unter der Voraussetzung, dass bei der Vermessung im Massenspektrometer für jeden Analyten mindestens zehn Punkte pro Peak aufgenommen werden können, wurde für jeden Analyten ein Retentionszeitfenster festgelegt. Des Weiteren benötigt das Massenspektrometer mindestens 3 ms für die Aufnahme eines Massenüberganges (Dwell Zeit).

Besondere Herausforderungen in der Analytik

Beim Tunen der Benzodiazepine fiel besonders Clorazepat ins Augenmerk. Laut Baselt 2017 ist eine zwei- bis sechs-prozentige Ausscheidung der Muttersubstanz im Urin zu erwarten. In der Untersuchung zeigte sich eine starke in vitro Instabilität des Clorazepats mit einer raschen Zersetzung zu Nordazepam. Schließlich wurde Clorazepat in Kategorie 0 verschoben, weil Nordazepam als Metabolit keine Rückschlüsse auf die Muttersubstanz zulässt.

Das Opioid Propoxyphen wird laut Baselt 2017 hauptsächlich zu Norpropoxyphen metabolisiert und zu etwa 13 % im Urin ausgeschieden. Norpropoxyphen (m/z 326) zeigte eine starke Instabilität, aber wiederholt ein gutes Signal bei m/z 308. Hierbei handelt es sich um ein dehydriertes Umlagerungsprodukt (dehydrated rearrangement product (RAP)). Auch Crews et al. 2009 zeigten, dass die chemische Degradation des Norpropoxyphen zum dehydrierten Umlagerungsprodukt eine Herausforderung bei der Quantifizierung von Norpropoxyphen im Urin darstellt. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen ist eine massenspektrometrische Erfassung von Norpropoxyphen (m/z 326) nicht gelungen. Daraus resultierend wurde nur das dehydrierte Umlagerungsprodukt (Norpropoxyphen RAP) als Metabolit des Propoxyphen, mit der zusätzlichen Detektion eines dritten MRM-Überganges, in die Methode aufgenommen.

Bei Valproinsäure handelt es sich um einen sauren Analyten, der im negativen Ionenmodus vermessen wurde. Beim Tuning der Valproinsäure (m/z 143) gelang keine Detektion von Fragment-Ionen. Shibata et al. 2012 publizierten eine LC-MS/MS Methode zur Detektion von 22 Antiepileptika, wobei auch hier nur das Vorläufer-Ion der Valproinsäure m/z 143 zur Bestimmung herangezogen wurde. Aufgrund der Entwicklung einer qualitativen Methode wurde die Detektion von Valproinsäure ohne Fragment-Ionen als akzeptabel angesehen.

Chloralhydrat, der Kategorie 2 zugeordnet, wird zu 28 % als Trichloressigsäure-Glucuronid im Urin ausgeschieden (Baselt 2017). Die massenspektrometrische Analyse von Trichloressigsäure blieb allerdings auch nach mehrfachem Infundieren erfolglos, sodass Chloralhydrat nachträglich in die Kategorie 0 verschoben wurde.

Substanzen, die zum Beispiel Chloratome oder Bromatome enthalten, zeigten im Massenspektrum entsprechende Isotopenmuster (Hart 2007; Gross 2013). Beim Tuning von Bromazepam und α -Hydroxybromazepam ließen sich optimale Signalintensitäten der Massenübergänge des ^{81}Br Isotops erzeugen.

Norsertralin (m/z 292) zeigte im Massenspektrum wiederholt ein schlechtes Signal, aber ein sehr gutes Signal bei m/z 275. Aufgrund der Struktur von Norsertralin lag der Verdacht nahe, dass es sich hierbei um eine Abspaltung der Aminogruppe handelte. Aus dem Signal m/z 275 ließen sich ebenfalls Fragment-Ionen hoher Intensität erzeugen. Die Vermessung von Norsertralin erfolgte schließlich über das Signal m/z 275.

Die Antikonvulsiva Felbamat und Vigabatrin unterliegen zwar einer positiven Ionisierung, zeigten aber optimale Signale unter Anwendung der Tune-Parameter des negativen Ionenmodus und wurden aufgrund dessen mit den Barbituraten in Methode C vereint.

Alle relevanten Daten und Ergebnisse der massenspektrometrischen Detektion wurden in der Tabelle 17 zusammengefasst und im Anhang hinterlegt.

Im Anschluss an das Tuning der Substanzen entstand eine finale Liste mit 143 Analyten, welche in die weitere Methodenentwicklung aufgenommen wurden.

7.3.2 Chromatographie

Im Vergleich der verschiedenen Chromatographie-Säulen zeigte die Raptor™ Biphenyl-Säule (100 mm) die beste Trennung der Analyten. Des Weiteren wurden mit den Laufmitteln A1 (Wasser + 0,1 % FAc) und B1 (Methanol + 0,1 % FAc) gute Peakformen erreicht und im Vergleich zum gepufferten System (A2 und B2) die Gefahr von Verunreinigungen, zum Beispiel durch Puffersalze, der Chromatographie-Säule sowie des Massenspektrometers verringert. Bei der Entwicklung der chromatographischen Methode konnten nicht alle 143 Analyten in einer Methode vereint werden. Unter der Voraussetzung optimaler Peakformen und einer guten Trennung der Analyten voneinander, aber der gleichzeitig verschiedenen chemischen und physikalischen Eigenschaften vieler Substanzen, entstanden zwei verschiedene Gradienten und es erfolgte eine Aufteilung der 143 Analyten in vier Methoden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Einteilung der Substanzklassen in Methode A, B, C, D

Methode	A	B	C	D
Substanzklasse/ Substanz	Benzodiazepine Opioide Antihistaminika Myotonolytika Andere Substanzen	TCA Neuroleptika Atypische Neuroleptika Antikonvulsiva Rest der Psychopharmaka	Barbiturate Felbamat Vigabatrin	GHB Valproinsäure

In die Methode A wurden insgesamt 73 Analyten und in die Methode B 63 Analyten eingeteilt. Die Analyten beider Methoden zeigten jeweils die beste Trennung im 20-minütigen Gradientenlauf Gradient 1 (Tabelle 2 unter 6.2.3). Dabei erfolgte die Elution der Analyten der Methode A zwischen 2,0 und 13,0 Minuten (Abbildung 4) und der Analyten der Methode B zwischen 1,5 und 12,0 Minuten (Abbildung 5). In Methode C wurden fünf Analyten und in Methode D zwei Analyten eingeteilt. Die Chromatographie beider Methoden erfolgte jeweils mit Gradient 6 (Tabelle 2 unter 6.2.3), wobei es sich hierbei um eine Kombination aus einem isokratischen Laufmittelfluss in den ersten 1,8 Minuten handelt, der in einen Gradientenlauf über weitere 6,2 Minuten übergeht. Mit diesem Gradienten

erfolgte eine Trennung der Analyten der Methode C zwischen 0,9 und 6,3 Minuten (Abbildung 6) und der Analyten der Methode D zwischen 1,1 und 6,5 Minuten (Abbildung 7).

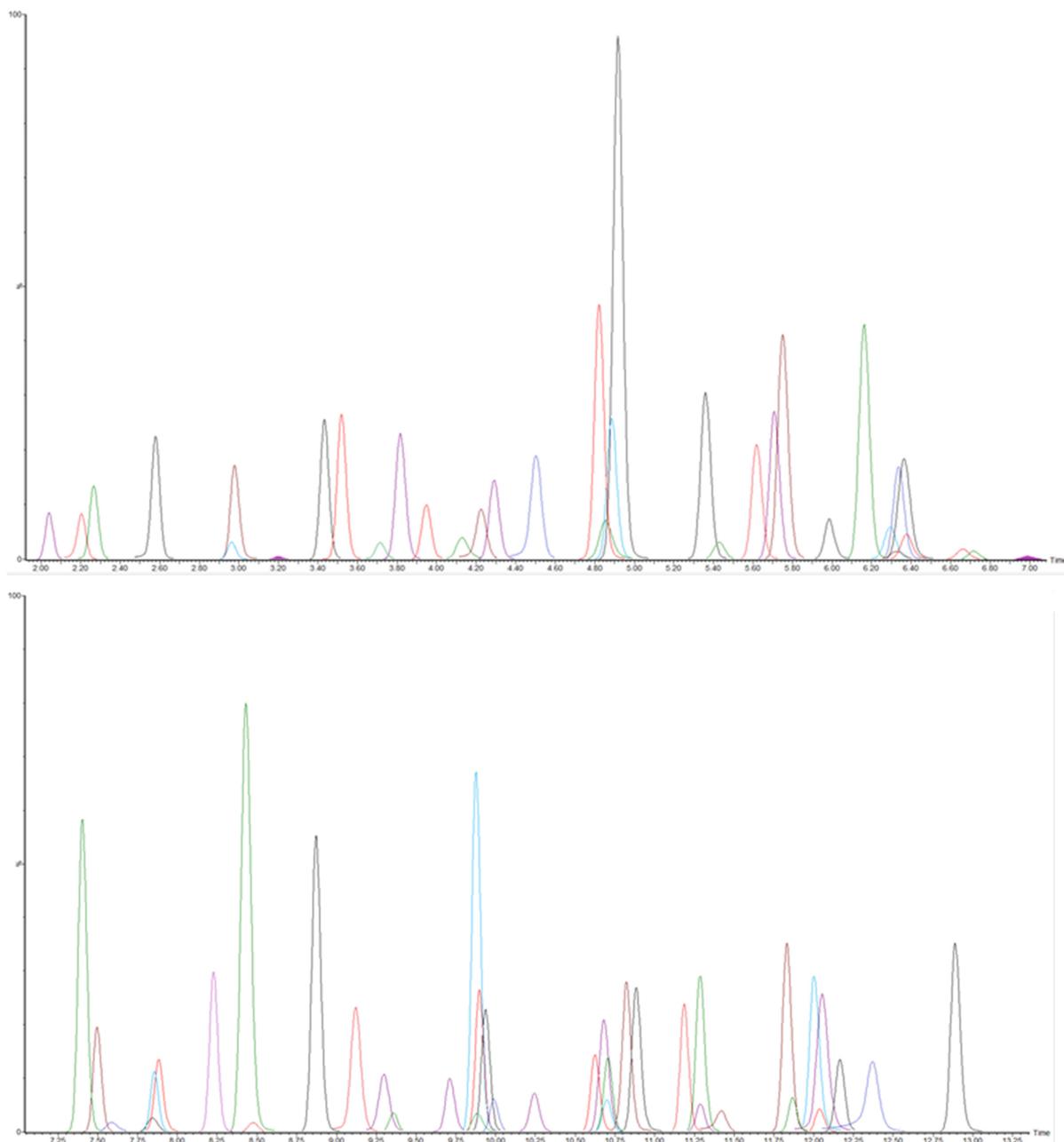


Abbildung 4: TIC-Spektren der Analyten der Methode A (73 Analyten) Darstellung der Peakintensitäten (in Prozent) über den Retentionszeitraum von 2,0 bis 7,0 Minuten (oben) und 7,0 bis 13,0 Minuten (unten) verteilt.

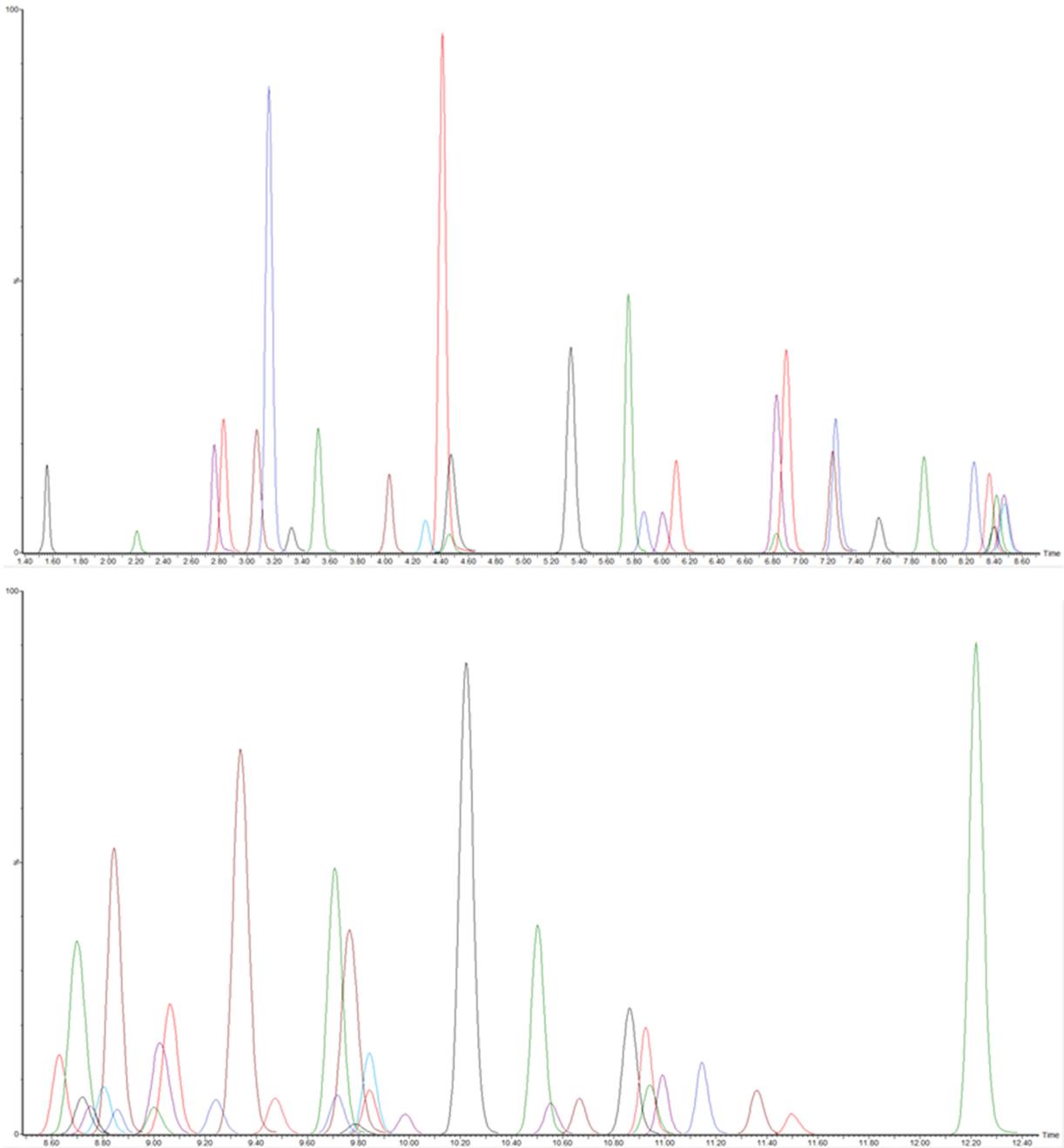


Abbildung 5: TIC-Spektren der Analyten der Methode B (63 Analyten) Darstellung der Peakintensitäten (in Prozent) über den Retentionszeitraum von 1,4 bis 8,6 Minuten (oben) und 8,6 bis 12,4 Minuten (unten) verteilt.

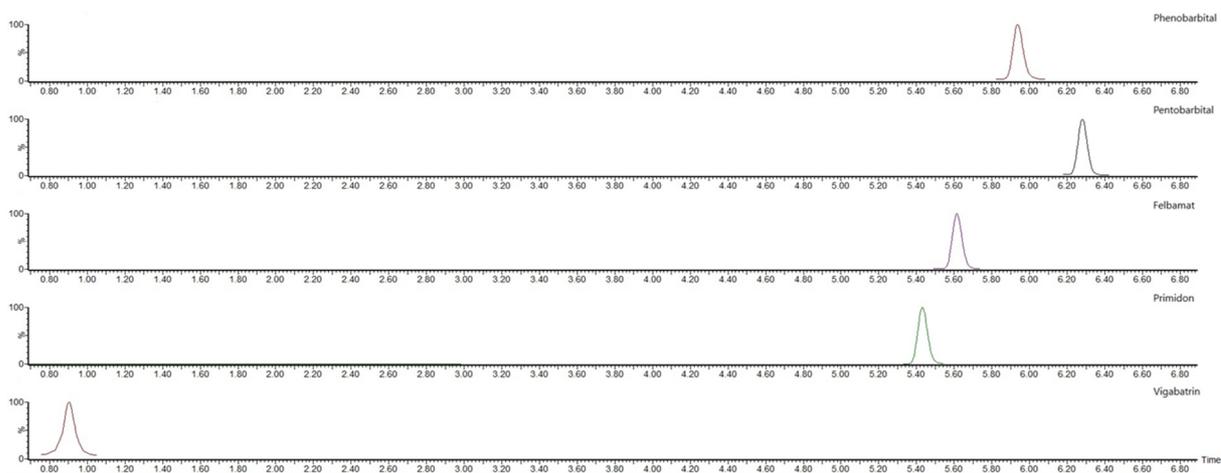


Abbildung 6: TIC-Spektren der Analyten der Methode C (4 Analyten) Darstellung der Peakintensitäten (in Prozent) über den Retentionszeitraum von 0,8 bis 6,8 Minuten verteilt.

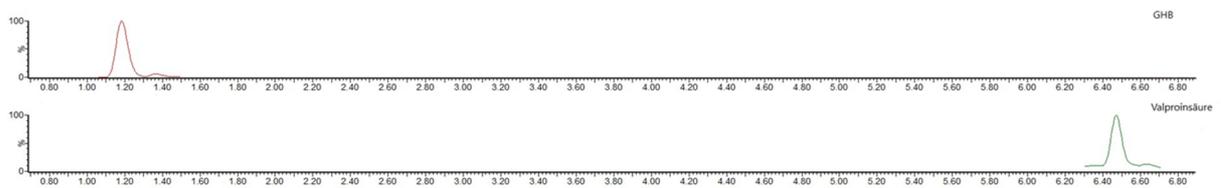


Abbildung 7: TIC-Spektren der Analyten der Methode D (2 Analyten) Darstellung der Peakintensitäten (in Prozent) über den Retentionszeitraum von 0,8 bis 6,8 Minuten verteilt.

Auswahl interner Standards

Für die Methode A wurden zehn deuterierte Substanzen, für die Methoden B und C jeweils zwei deuterierte Substanzen und für Methode D ein interner Standard ausgewählt (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ausgewählte interne Standards

Methode	A	B	C	D
Interne Standards	Diazepam-d5 Midazolam-d4 Nordazepam-d5 Zolpidem-d6 Dihydrocodein-d6 Hydrocodon-d3 Methadon-d9 Morphin-d3 Ketamin-d4 Norketamin-d4	Quetiapin-d8 Venlafaxin-d6	Pentobarbital-d5 Phenobarbital-d5	GHB-d6

7.4 Finale Methode

7.4.1 Probenvorbereitung

Die qualitative Analyse der K.-o.-Substanzen wurde in zwei Extraktionsmethoden eingeteilt. Die Analyten GHB und Valproinsäure wurden über die Chromabond® HR-XA-SPE-Säule (Methode D) extrahiert, alle anderen Analyten über die Chromabond® HLB-SPE-Säule (Methode A, B und C). Für die Extraktion der Analyten der Methoden A, B und C wurde 1 mL Urin mit interner Standard-Lösung (Tabelle 13) versetzt. Nach der Zugabe von 25 µL β-Glucuronidase-Lösung aus E. coli wurde die Probe gemischt und im Brutschrank bei 47 °C über 3 Stunden inkubiert. Anschließend wurde die Probe erneut gemischt und 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde auf die zuvor mit 3 mL Methanol und 3 mL Wasser konditionierte HLB-Säule gegeben. Es folgte ein Waschschriff mit 3 mL Wasser. Die Säule wurde unter Vakuum 10 Minuten getrocknet und die Probe abschließend mit 1 mL Methanol in ein v-Vial eluiert. Das mittels Vakuumzentrifuge bei 20 °C zur Trockene eingedampfte Eluat wurde mit 400 µL Laufmittel A1 (Wasser + 0,1 % FAc) und 100 µL Laufmittel B1 (Methanol + 0,1 % FAc) rekonstituiert. Für die Methoden A und B wurde die Probe nochmals 1 zu 5 (100 µL Probe + 400 µL A1-Laufmittel) und für Methode C 1 zu 20 (20 µL Probe + 380 µL A1-Laufmittel) verdünnt.

Die Vorbereitung der Urinprobe (1 mL) für Methode D erfolgte analog der Methoden A, B, C. Nach Inkubation wurde die Probe auf die zuvor mit 3 mL Methanol und 3 mL Wasser konditionierte HR-XA-Säule gegeben, mit 3 mL Wasser gewaschen und 10 Minuten unter Vakuum getrocknet. Anschließend wurde die Probe das erste Mal mit 1 mL Methanol eluiert und in der Vakuumzentrifuge bei 20 °C eingedampft. Es folgte eine zweite Elution der Probe über die gleiche SPE-Säule mit 1 mL sechszehntiger Essigsäure in Methanol und einem nochmaligen Eindampfen des Eluats. Der Rückstand wurde mit 450 µL Laufmittel A1 (Wasser + 0,1 % FAc) und 50 µL Laufmittel B1 (Methanol + 0,1 % FAc) rekonstituiert und vor der Injektion 1 zu 5 verdünnt (100 µL Probe + 400 µL A1-Laufmittel).

Tabelle 13: Zugabe interner Standard-Lösung

Methode	Interne Standards	Pipettierschema	Endkonzentration
A	Diazepam-d5 Midazolam-d4 Nordazepam-d5 Zolpidem-d6 Dihydrocodein-d6 Hydrocodon-d3 Methadon-d9 Morphin-d3 Ketamin-d4 Norketamin-d4	10 µL von 1 ng/mL	10 ng/mL
B	Quetiapin-d8 Venlafaxin-d6	10 µL von 1 ng/mL	10 ng/mL

Methode	Interne Standards	Pipettierschema	Endkonzentration
C	Pentobarbital-d5	2,5 µL von 1 mg/mL	2500 ng/mL
	Phenobarbital-d5	2,5 µL von 1 mg/mL	2500 ng/mL
D	GHB-d6	30 µL von 1 mg/mL	3000 ng/mL

7.4.2 LC-MS/MS-Parameter

Laufmittel: A: Wasser + 0,1 % FAc / B: Methanol + 0,1 % FAc

Chromatographie-Säule: Raptor™ Biphenyl (2,7 µm, 100 x 2,1 mm)

Gradienten der finalen Methode:

Methode A + B: 0,6 mL/min		Methode C + D: 0,3 mL/min	
Zeit (min)	% B	Zeit (min)	% B
0,00	5	0,00 bis 1,80	5
9,00	50	4,50	50
18,00	100	7,00	100
18,01	5	7,01	5
20,00	5	8,00	5

Methode A:

- Injektionsvolumen: 10 µL
- MS-File: Opi Benz Myoton Antihis RestAnalyten.exp
- Tune-File: Tuneuniversal positiv.ipr (ESI +)
- Inlet-File: Methode A+B 0,6 mL 20 Minuten
- Auswertung: Opi Benz Myoton Antihis RestAnalyten.mdb

Methode B:

- Injektionsvolumen: 10 µL
- MS-File: Neuro AtypNeuro TCA RestPsych Antikonv.exp
- Tune-File: Tuneuniversal positiv.ipr (ESI +)
- Inlet-File: Methode A+B 0,6 mL 20 Minuten
- Auswertung: Neuro AtypNeuro TCA RestPsych Antikonv.mdb

Methode C:

- Injektionsvolumen: 10 µL
- MS-File: Barbiturate + Felbamat + Vigabatrin.exp
- Tune-File: Tuneuniversal negativ.ipr (ESI -)
- Inlet-File: Methode C+D 0,3 mL 8 Minuten
- Auswertung: Barbiturate + Felbamat + Vigabatrin.mdb

Methode D:

- Injektionsvolumen: 10 µL
- MS-File: GHB + Valproinsäure.exp
- Tune-File: Tuneuniversal negativ.ipr (ESI -)
- Inlet-File: Methode C+D 0,3 mL 8 Minuten
- Auswertung: GHB + Valproinsäure.mdb

7.5 Methodenvalidierung

Alle Ergebnisse der Methodenvalidierung wurden in Tabelle 18: *Chromatographie- und Validierungsergebnisse Methode A, B, C, D* zusammengefasst und im Anhang hinterlegt.

7.5.1 Interferenzen

Aus der Durchführung des Interferenztests zeigte sich insgesamt bei den 143 Substanzen nur eine Interferenz zwischen den ausgewählten Ionenübergängen von Lorazepam und der entsprechenden deuterierten Substanz Lorazepam-d4. Aufgrund dessen wurde auf Lorazepam-d4 als interner Standard verzichtet und Nordazepam-d5 in die Methode aufgenommen.

7.5.2 Matrixeffekte

Bei der Prüfung auf Ionen-Suppression und Ionen-Enhancement wurden für 118 der 143 Analyten den Richtlinien entsprechend keine Matrixeffekte außerhalb der Grenzen 75 % bis 125 % festgestellt (Tabelle 18). Dagegen zeigte sich bei zwölf Analyten ein Ionen-Enhancement und bei 13 Analyten eine starke Ionen-Suppression über die zulässigen Grenzwerte hinaus (Tabelle 14). In den Methoden C und D wurden für die Substanzen Pentobarbital, Phenobarbital und GHB isotopenmarkierte Substanzen (mit Deuterium-Atomen ersetzte Wasserstoff-Atome) als interne Standards verwendet. Aufgrund identischem Ionisierungsverhalten sowie ähnlichen Retentionszeiten wurden auftretende Matrixeffekte kompensiert. Es erfolgte eine Auswertung des Tests auf Matrixeffekte für Pentobarbital, Phenobarbital und GHB über die Response-Faktoren und entsprach dann für alle drei Analyten den Anforderungen.

Tabelle 14: Ionen-Suppression und -Enhancement ausgewählter Analyten

Ionen- Enhancement			Ionen- Suppression		
Analyt	Matrixeffekte		Analyt	Matrixeffekte	
	QC1 (%)	QC2 (%)		QC1 (%)	QC2 (%)
Chlordiazepoxid	147	145	Demoxepam	75	73
7-Aminoclonazepam	124	127	Desmethyloanzapin	-50	33
7-Aminoflunitrazepam	128	128	Chlorprothixen	63	68
Flupirtin	157	160	Melperon	35	50
Hydromorphon	125	126	Pimozid	14	-1
Tramadol	139	139	Thioridazin	44	45
Scopolamin	138	139	Memantin	5	44
9-Hydroxyrisperidon	135	138	Normianserin	76	52
Amantadin	156	153	Norsertralin	11	15
Venlafaxin	124	126	Carbamazepin	60	37
Primidon	128	135	Ethosuximid	52	55
Valproinsäure	147	143	Phenytoin	76	55
			Topiramate	30	84

Ionen-Enhancement bei Abweichungen > 125 %; Ionen-Suppression bei Abweichungen < 75 %

7.5.3 Wiederfindung

Die entwickelte Extraktionsmethode wurde durch die Bestimmung der Wiederfindungsraten der Analyten auf ihre Effektivität überprüft. Nach den Richtlinien der GTFCh soll die Wiederfindung mindestens 50 % betragen (GTFCh 2009). Dieses Kriterium konnte für insgesamt 138 der 143 Analyten erfüllt werden (Tabelle 18). Dabei ließen sich für 56 von 73 Analyten der Methode A und für 44 von 63 Analyten der Methode B Wiederfindungsraten von mindestens 80 % ermitteln. Alle Substanzen der Methode C, mit Ausnahme von Vigabatrin, wiesen Wiederfindungsraten von mehr als 68 % auf.

Für fünf Analyten erwies sich die neu entwickelte Extraktionsmethode jedoch als nicht ausreichend effektiv. So wurden für Clomethiazol und Pregabalin Wiederfindungsraten kleiner 30 %, für Valproinsäure eine Wiederfindung von 15 % und für GHB und Vigabatrin Wiederfindungsraten von nur kleiner zwei Prozent bestimmt.

Für die verwendeten deuterierten Standards wurden ebenfalls die Wiederfindungsraten ermittelt. Mit Ausnahme von GHB-d6 wiesen alle deuterierten Substanzen den Anforderungen entsprechend Wiederfindungsraten von mehr als 50 % auf.

7.5.4 Limit of Detection (Nachweisgrenzen)

Für die meisten der 143 Analyten war es möglich sehr niedrige Nachweisgrenzen (LOD) zu erreichen (Tabelle 18). Für 117 Analyten ließen sich Nachweisgrenzen kleiner 3,6 ng/mL ermitteln. Sechs Analyten der Methode A erreichten eine Nachweisgrenze kleiner 13 ng/mL und zehn weitere Analyten der Methode B blieben unter 17 ng/mL. Ethosuximid (LOD 38 ng/mL), Levetiracetam (LOD 43 ng/mL) und Topiramamat (LOD 102 ng/mL) wiesen von allen Analyten der Methode B die höchsten Nachweisgrenzen auf. In Methode C wurden für die Barbiturate und Felbamamat Nachweisgrenzen kleiner 350 ng/mL erreicht. Vigabatrin wies hier die höchste Nachweisgrenze mit 2910 ng/mL auf.

Bei der Validierung der Methode D wurde für GHB eine Nachweisgrenze von 840 ng/mL ermittelt. Bei der Identifizierung von Valproinsäure ließen sich, ohne der Vermessung von Fragment-Ionen, Konzentrationen von 5000 ng/mL noch sicher detektieren.

7.5.5 Stabilität

Aufgrund der langen Analysenzeiten einer Probenserie und zur Prüfung, ob bei einem möglichen Geräteausfall die aufgearbeiteten Proben (Extrakte) auch Tage später vermessen werden können, wurde der Stabilitätstest im Zeitraum von Null bis 96 Stunden durchgeführt.

Dabei waren die meisten Analyten (124/143) in einem Zeitraum von 96 Stunden stabil, nachgewiesen durch einen Peakflächenverlust von weniger als 25 %. Desalkylflurazepam, Nitrazepam, 7-Aminonitrazepam, α -Hydroxybromazepam, 7-Aminoclonazepam, Nordazepam und Topiramamat zeigten dagegen innerhalb von 24 Stunden eine hohe Instabilität.

Zwölf der 15 ausgewählten deuterierten Standards waren ebenfalls über 96 Stunden stabil. Hierbei zeigte nur Morphin-d3 einen starken Stabilitätsverlust nach 48 Stunden.

Für den Großteil der Analyten ließ sich somit eine sehr gute Stabilität in den Extrakten nachweisen (Tabelle 18). Informationen zu Stabilitäten der Substanzen im Urin und damit entsprechende Lagerungshinweise wurden der Literatur entnommen (Baselt 2017). Aufgrund dessen wurde auf eine Untersuchung der Stabilität der Analyten im Urin verzichtet.

7.6 Ergebnisse der Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg

In Tabelle 19 (siehe Anhang) wurden alle Ergebnisse der Methoden A, B, C und D der untersuchten K.-o.-Fälle dargestellt. Darüber hinaus wurden das Jahr, in dem die Untersuchung der K.-o.-Fälle beauftragt wurde, der Auftraggeber, das Geschlecht (w/m) sowie das Alter der Geschädigten, über die K.-o.-Mittel-Beibringung hinaus erfolgte Delikte, das Zeitintervall zwischen Vorfallszeit und Probenasservierung und die Untersuchungsergebnisse bisher angewendeter Methoden in der Tabelle zusammengefasst.

7.6.1 Erstellung des Untersuchungskollektivs und Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle mit der entwickelten Methode

Im Institut für Rechtsmedizin Hamburg wurden in dem Untersuchungszeitraum der Jahre 2017 bis April 2020 insgesamt 214 K.-o.-Verdachtsfälle untersucht. In 44 Fällen konnte keine Nachuntersuchung durchgeführt werden, weil in den Rückstellproben nicht genügend Material (weniger als 2 mL) zur Verfügung stand. Des Weiteren wurden aufgrund fehlender Informationen zum Fallgeschehen vier Fälle ebenfalls nicht mit in die Untersuchung eingeschlossen.

Mit der neu entwickelten Methode wurden insgesamt 166 K.-o.-Verdachtsfälle retrospektiv erneut untersucht, wobei 55 Fälle aus dem Jahr 2017, 54 Fälle aus 2018, 49 Fälle aus 2019 und acht Fälle bis April 2020 eingeschlossen wurden (Abbildung 8). Die Tatzeit und Probenasservierung eines Falles lag im November 2016, der Untersuchungsauftrag der Polizei wurde im März 2017 gestellt. Dieser Fall wurde schließlich dem Jahr 2017 zugeordnet. Weiterhin wurden sechs Fälle dem Jahr 2018 und ein Fall dem Jahr 2020 zugeordnet, deren Tatzeiten zwar im Jahr zuvor lagen, aber die Untersuchungsaufträge 2018 bzw. 2020 erfolgten.

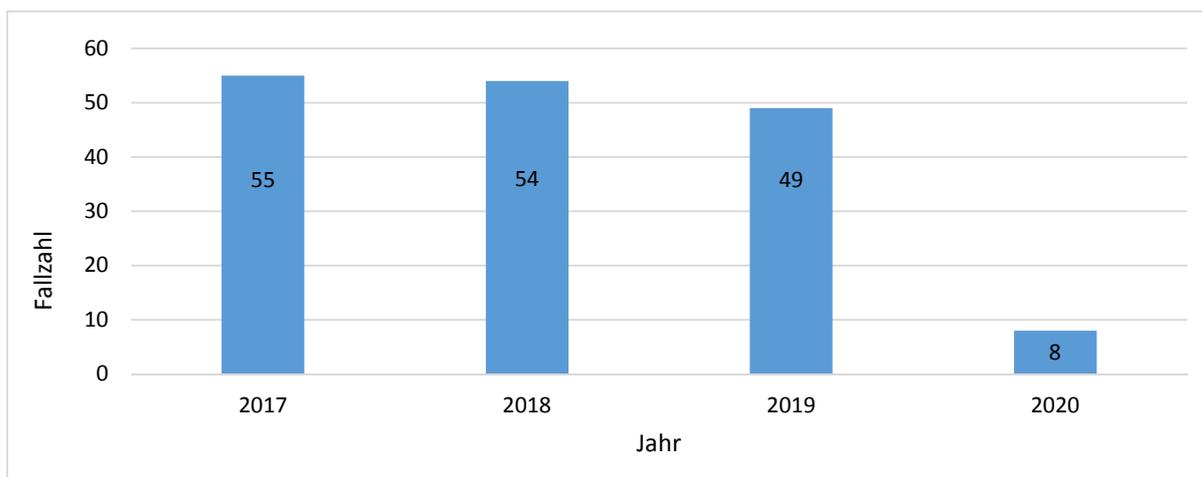


Abbildung 8: Retrospektive Untersuchung 166 K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg im Zeitraum von Januar 2017 bis April 2020

Die Lagerung von 157 Echtfällen erfolgte bei -20 °C, neun K.-o.-Fälle wurden im Kühlschrank bei 8 °C aufbewahrt. Des Weiteren wurden zwei Fälle nur in den Methoden A, B und C untersucht, wobei in einem Fall nicht genügend Material zur Verfügung stand und ein Fall aufgrund der Fragestellung keine Untersuchung in Methode D erforderte.

7.6.2 Auswertung der K.-o.-Fälle hinsichtlich Alter, Geschlecht, Auftraggeber, Delikt, Vorfallszeit und Zeitpunkt der Probenasservierung

Aus dem Untersuchungskollektiv wurden insgesamt 137 K.-o.-Verdachtsfälle von der Polizei (82,5 %), 21 Fälle von den Geschädigten privat (12,7 %) und acht Fälle mit einem Überweisungsschein des Hausarztes der Geschädigten (4,8 %) beauftragt (Abbildung 9 und Abbildung 10). Insgesamt waren 74,7 % der betroffenen Personen (124/166) weiblich und 25,3 % (42/166) männlich (Abbildung 11 und Abbildung 12).

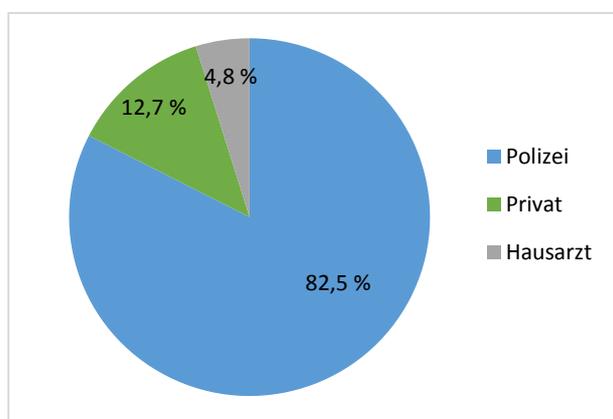


Abbildung 9: Auftraggeber der K.-o.-Fälle

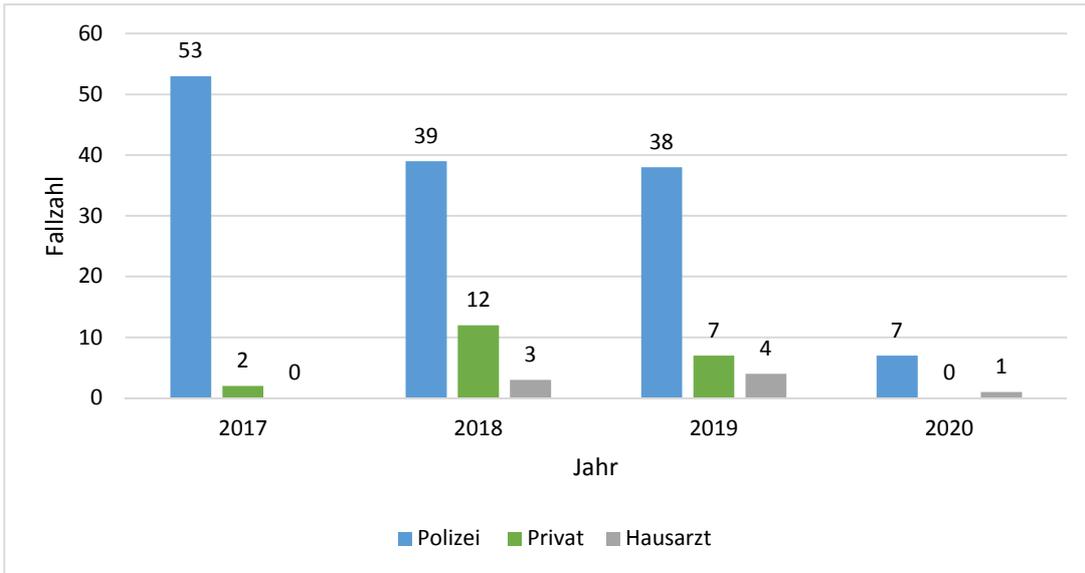


Abbildung 10: Auftraggeber der untersuchten K.-o.-Fälle in den Jahren 2017 bis April 2020

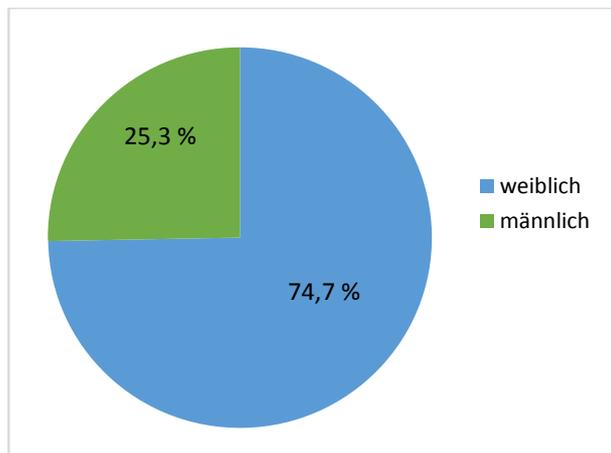


Abbildung 11: Geschlechterverteilung der K.-o.-Fälle

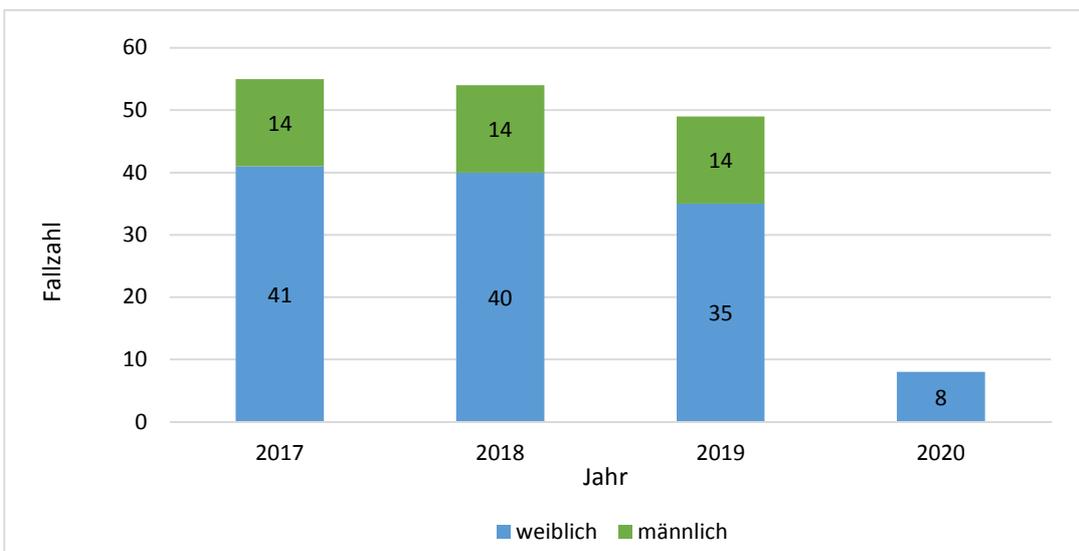


Abbildung 12: Geschlechterverteilung der untersuchten K.-o.-Fälle in den Jahren 2017 bis April 2020

Über die K.-o.-Mittel-Beibringung hinaus wurden in 44 Fällen (26,2 %) ein Sexualdelikt, in 18 Fällen (10,7 %) ein Raubdelikt und in jeweils drei Fällen eine Körperverletzung (1,8 %) sowie eine Freiheitsberaubung (1,8 %) angezeigt. In 100 Fällen (59,5 %) wurden dagegen keine Angaben über weitere Delikte gemacht (Abbildung 13).

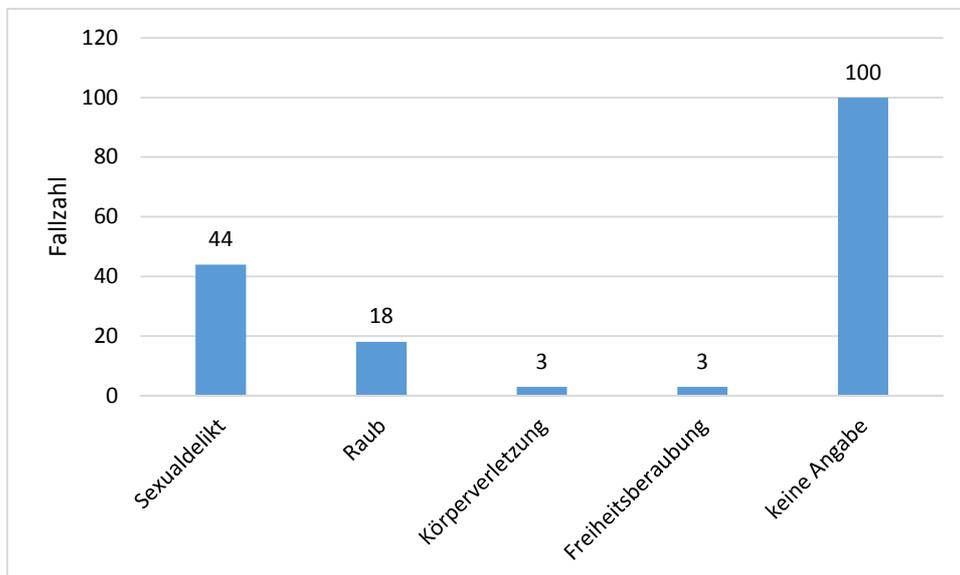


Abbildung 13: Über die K.-o.-Mittel-Beibringung hinaus angezeigte Delikte

Die Auswertung der Geschlechterverteilung im Zusammenhang mit den Delikten ergab folgendes: 43 Personen im Falle eines Sexualdeliktes waren weiblich (97,7 %) und nur eine Person männlich (2,3 %). Bei den Raubdelikten waren dagegen zehn Personen männlich (55,6 %) und acht Personen weiblich (44,4 %). In den drei Fällen mit Freiheitsberaubung bzw. Körperverletzung waren jeweils zwei Personen weiblich und eine Person männlich (Abbildung 14).

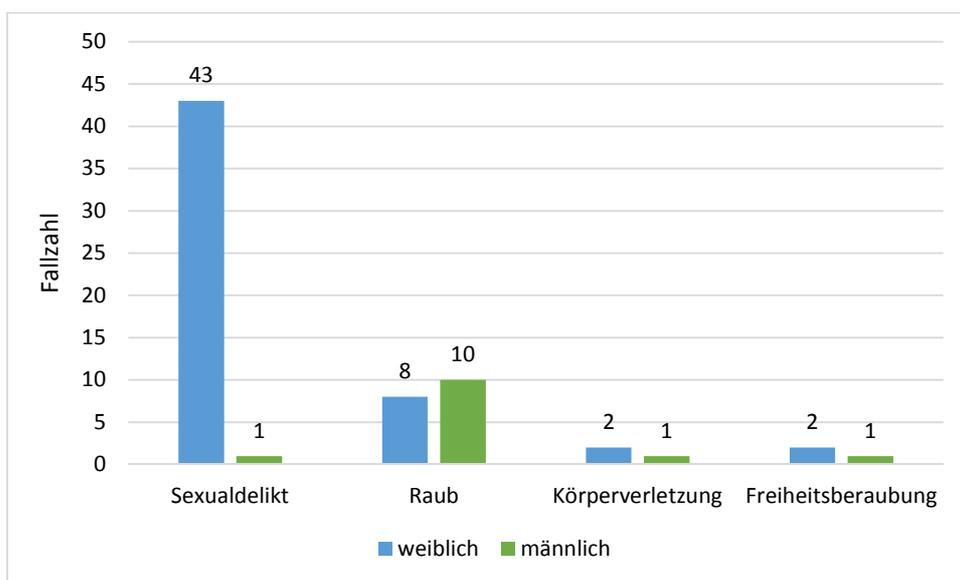


Abbildung 14: Geschlechterverteilung der angezeigten Delikte

Weiterhin ergab sich aus der Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle eine Altersspanne von dreizehn bis 78 Jahren (Abbildung 15). Dreiunddreißig Personen (19,9 %) waren jünger als 20 Jahre alt, 53 Personen (31,9 %) in den Zwanzigern, 25 Personen (15,1 %) in den Dreißigern, 10 Personen (6,0 %) in den Vierzigern und 7 Personen (4,2 %) fünfzig Jahre alt oder älter. In 38 Fällen (22,9 %) ließen sich keine Altersangabe der Geschädigten aus den vorhandenen Daten entnehmen.

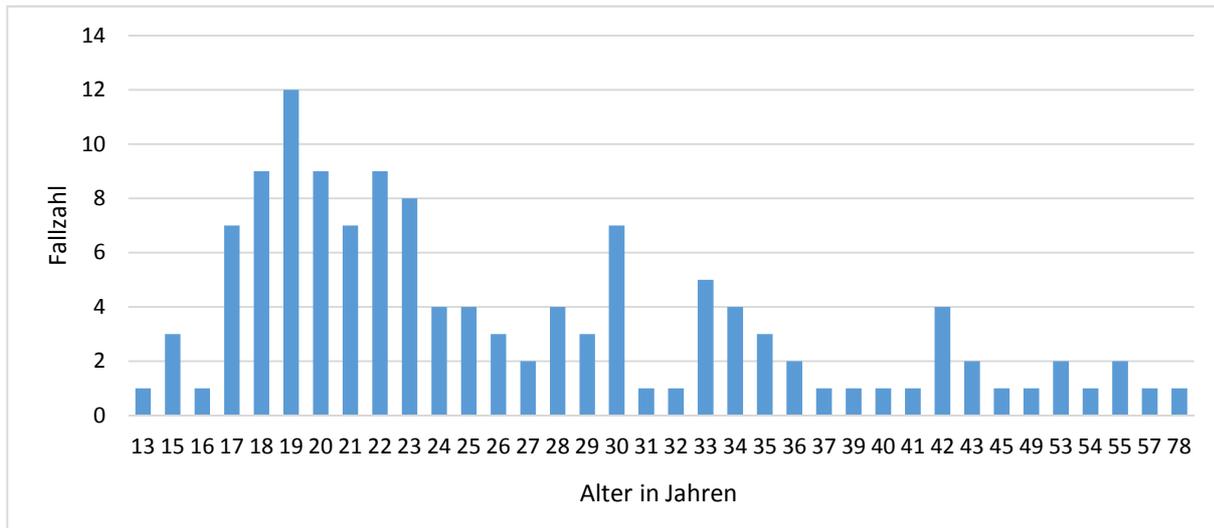


Abbildung 15: Altersverteilung der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle

Das aus der Vorfallszeit und dem Zeitpunkt der erfolgten Probenasservierung ermittelte Zeitintervall ergab für die meisten Fälle eine Spanne von drei bis 72 Stunden (Abbildung 16). In 25,9 % der Fälle wurde die Urinprobe zwischen zwölf und 24 Stunden, in 13,9 % zwischen sechs und zwölf Stunden nach dem Vorfall asserviert. In 33,1 % der Fälle ließ sich entweder aufgrund fehlender Informationen zur Vorfallszeit oder zum Zeitpunkt der Probenasservierung kein Zeitintervall ermitteln.

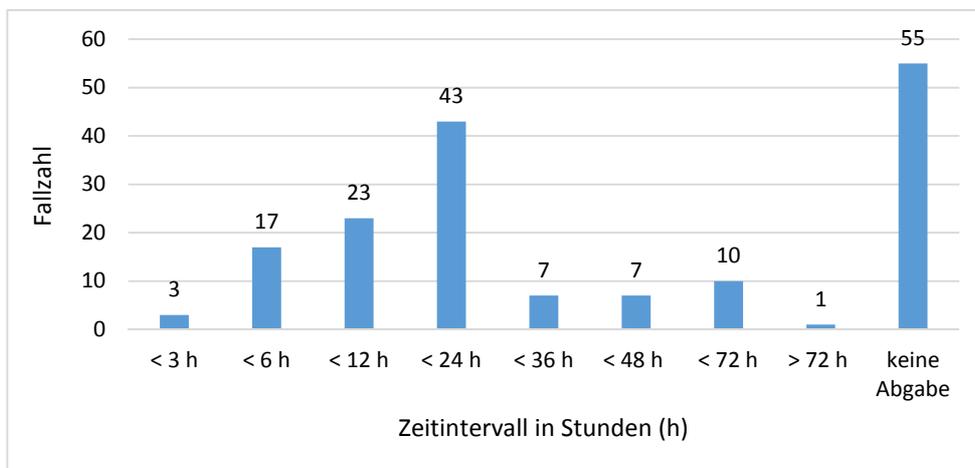


Abbildung 16: Zeitintervall zwischen Vorfallszeit und Probenasservierung

7.6.3 Auswertung der Untersuchungsergebnisse der neu entwickelten Methode

Durch die Untersuchung der 166 K.-o.-Fälle ließen sich in 60 Fällen einer oder mehrere Analyten der Methoden A, B, C und D nachweisen (Abbildung 17). Dabei waren 29 % der Fälle aus dem Jahr 2017, 46 % der Fälle aus dem Jahr 2018, 33 % der Fälle aus dem Jahr 2019 und 38 % der Fälle bis April 2020 positiv.

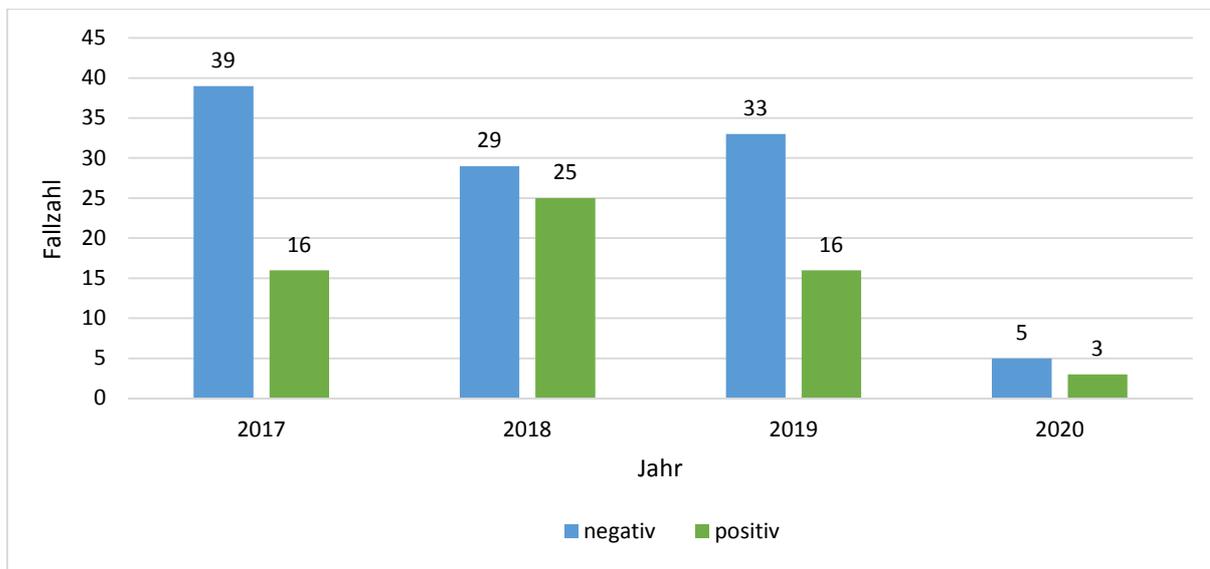


Abbildung 17: K.-o.-Verdachtsfälle mit positivem Nachweis eines oder mehrerer Analyten der neu entwickelten Methode

In der nachfolgenden Tabelle 15 wurden alle K.-o.-Fälle dargestellt, bei denen sich mindestens einer der Analyten mit der entwickelten Methode nachweisen ließ. Es erfolgte ein Vergleich der nachgewiesenen Analyten mit den Signalstärken/Peakflächen der dotierten Kontrollproben und daraus eine Bewertung, ob es sich hierbei um eine Spur (+) des Analyten handelte, dieser schwach positiv +, positiv ++ oder stark positiv +++ war.

In den Abbildungen 18 und 19 werden beispielhaft ein positiver und ein negativer Befund für Lorazepam (Methode A) dargestellt. Die Abbildung 20 zeigt die Detektion von GHB in einem Echtfall; Abbildung 21 im Vergleich einen negativen Befund für GHB.

Ergebnisse

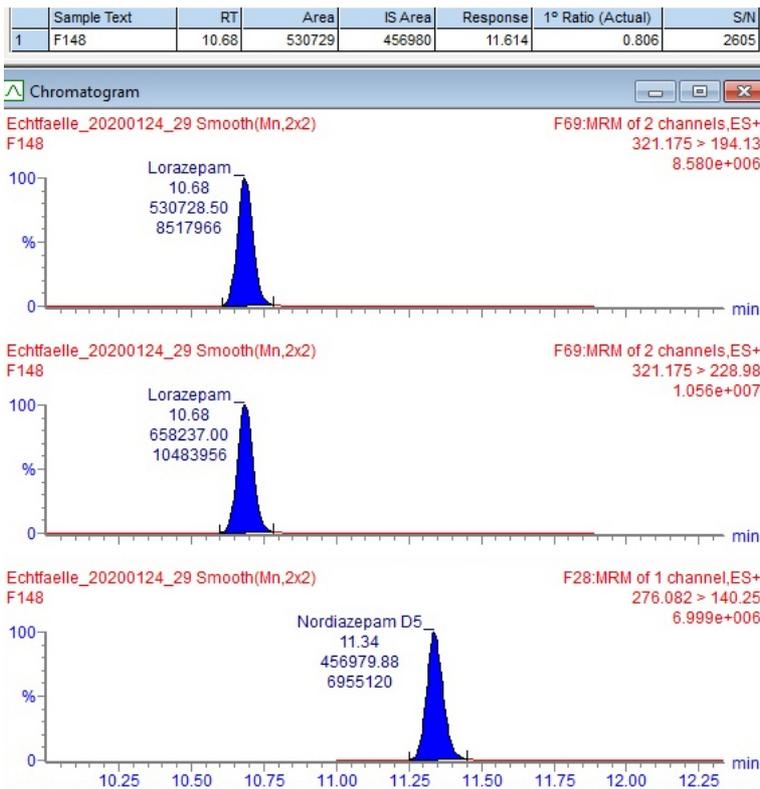


Abbildung 18: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtsfalls F148 mit einem positiven Befund für Lorazepam

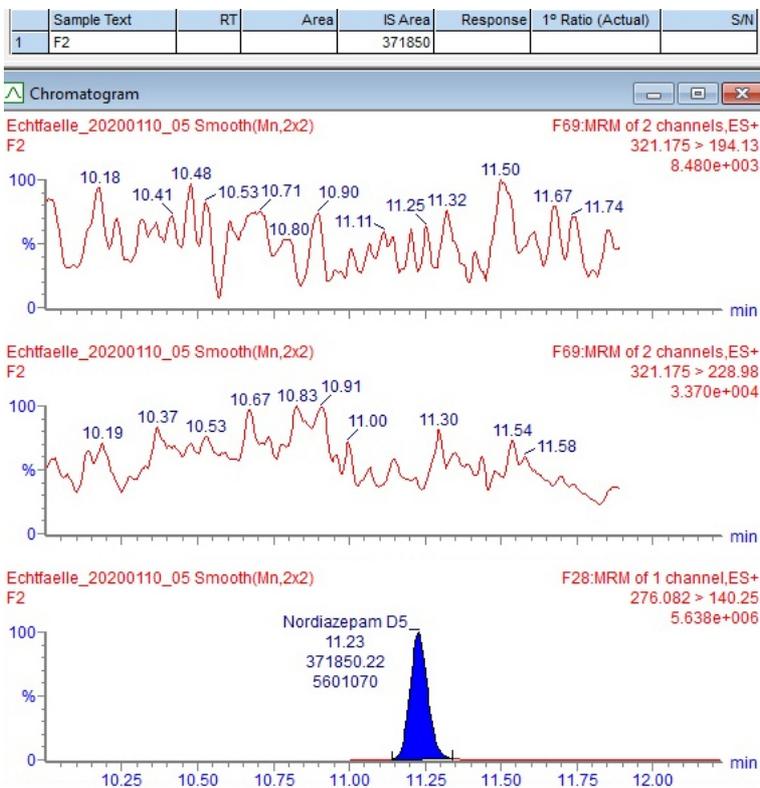


Abbildung 19: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtsfalls F2 mit einem negativen Befund für Lorazepam

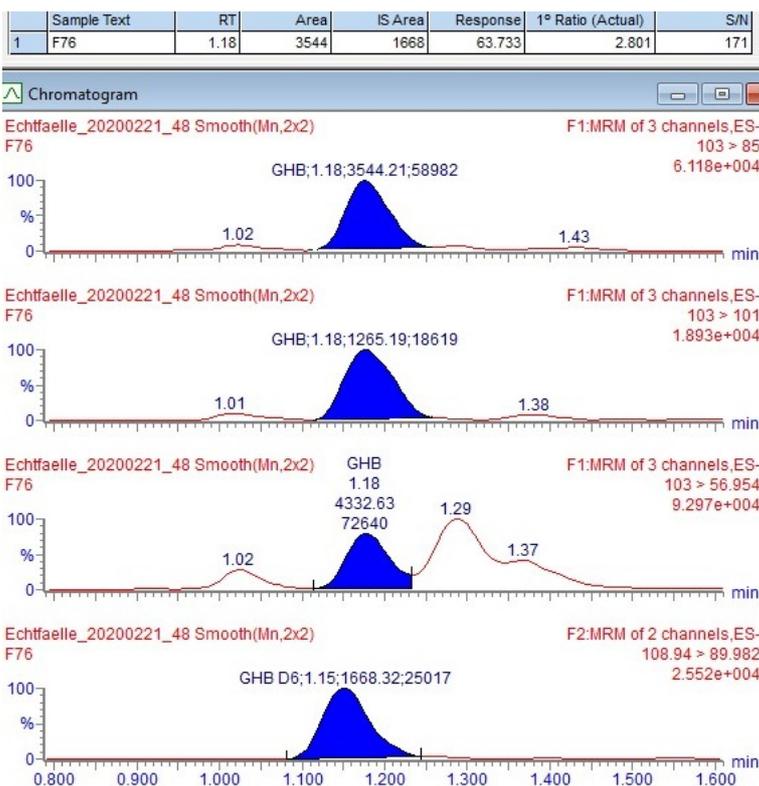


Abbildung 20: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtsfalls F76 mit einem positiven Befund für GHB

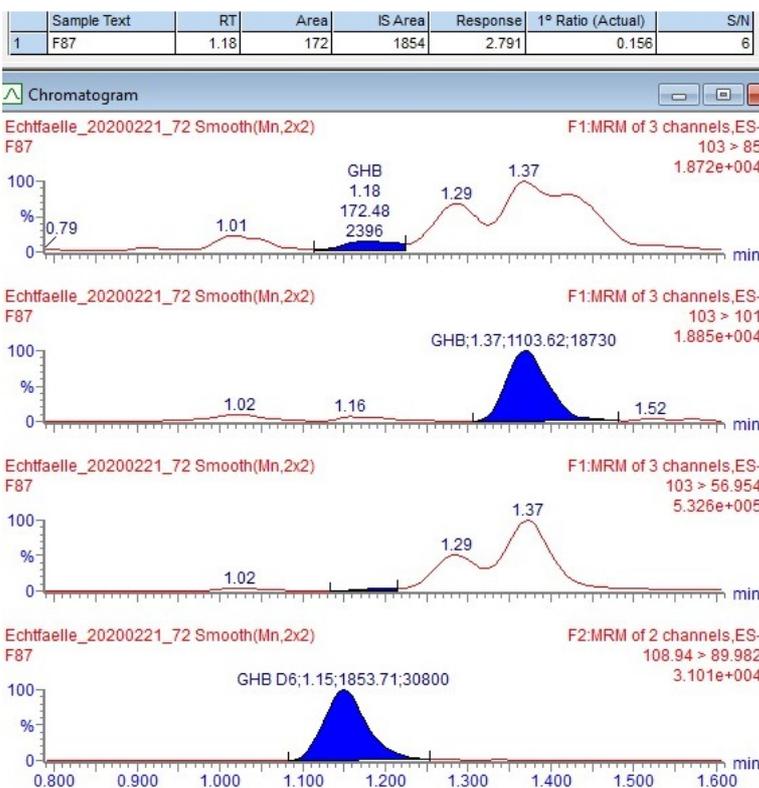


Abbildung 21: Chromatogramm des K.-o.-Verdachtsfalls F87 mit einem negativen Befund für GHB

Tabelle 15: Ausgewählte Fälle aus dem Untersuchungsgut des Instituts für Rechtsmedizin Hamburg aus den Jahren 2017 bis April 2020

Aufgeführt sind 60 Fälle, die mit der neu etablierten Methode nachuntersucht wurden. Angegeben sind der Jahrgang, der Auftraggeber, das Geschlecht und Alter der Personen, die über die K.-o.-Mittel-Beibringung hinaus angegebenen Delikte, das Zeitintervall zwischen Vorfallszeit und Probennahme (Zeitintervall), die Ergebnisse der neuen Methode und die bisherigen Ergebnisse.

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F5	2017	Pol	m	49	Raub	< 6 h	∅	Dehydroaripiprazol ++	∅	∅	Amlodipin Benzoylcegonin Dehydroaripiprazol* Ramipril
F9	2017	Pol	w	23	k.A.	< 24 h	Nordazepam + Oxazepam ++ Temazepam +	∅	∅	∅	Duloxetin Nordazepam Oxazepam
F16	2017	Pol	w	15	k.A.	k.A.	7-Aminoclonazepam ++ Codein ++ Norcodein ++ Morphin +++	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcegonin Codein MAM Morphin
F23	2017	Pol	w	22	Sexualdelikt	< 24 h	Dehydronorketamin +	Fluoxetin + Norfluoxetin (+)	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcegonin
F26	2017	Pol	w	41	Sexualdelikt	< 24 h	7-Aminoclonazepam ++ 7-Aminoflunitrazepam + Cetirizin + Hydromorphon + Methadon ++ EDDP +++ Morphin +++	Pregabalin +++	∅	∅	7-Aminoclonazepam 7-Aminoflunitrazepam* Buprenorphin Norbuprenorphin Cocain Benzoylcegonin Methadon EDDP Morphin* Pregabalin*

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F33	2017	Pol	w	23	Sexualdelikt	< 24 h	∅	Pipamperon + Venlafaxin +++ O-Desmethylvenlafaxin +++	∅	∅	Venlafaxin
F34	2017	Pol	m	k.A.	Raub	k.A.	Chlorphenamin ++	∅	∅	∅	Chlorphenamin*
F35	2017	Pol	w	k.A.	Freiheitsberaubung	< 3 h	Diazepam ++ Nordazepam +++ Oxazepam ++ Temazepam +++ Triazolam ++	∅	∅	∅	Diazepam Nordazepam Oxazepam BAK 1,10 - 1,20 ‰
F36	2017	Pol	w	30	Sexualdelikt	< 24 h	∅	Citalopram ++ N-Desmethylcitalopram +++	∅	∅	Citalopram N-Desmethylcitalopram Cocain Benzoylcgonin
F37	2017	Pol	w	15	Sexualdelikt	< 24 h	Ketamin + Dehydronorketamin ++ Norketamin +	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcgonin Ketamin* Norketamin* Dehydronorketamin* MDMA MDA BAK 0,00 ‰
F40	2017	Pol	w	17	k.A.	< 48 h	∅	Citalopram +++ N-Desmethylcitalopram +++	∅	∅	Citalopram N-Desmethylcitalopram AAK 0,55 ‰
F42	2017	Pol	w	24	Sexualdelikt	< 24 h	∅	∅	∅	GHB ++	GHB*
F43	2017	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	Nortriptylin +++ Olanzapin +++ Desmethyloanzapin +++ Promethazin-sulfoxid (+)	∅	∅	Benzoylcgonin Amitriptylin Nortriptylin Olanzapin

Ergebnisse

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F49	2017	Pol	m	31	Gefährliche Körperverletzung	< 36 h	Cetirizin +++	∅	∅	∅	Cetirizin* MDA MDMA
F50	2017	Priv	m	30	k.A.	k.A.	∅	Citalopram ++ N-Desmethylocitalopram ++	∅	∅	Benzoylcgonin Citalopram* N-Desmethylocitalopram*
F55	2017	Pol	w	20	Sexualdelikt	k.A.	7-Aminoclonazepam +++ Diazepam + Nordazepam +++ Oxazepam +++ Temazepam +++	Pregabalin +++	∅	∅	Amphetamin Clonazepam 7-Aminoclonazepam Cocain Benzoylcgonin MDA MDMA Nordazepam Oxazepam
F61	2017/ 2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	k.A.	∅	7-Hydroxyquetiapin +	∅	∅	7-Hydroxyquetiapin* Cocain Benzoylcgonin MDA MDMA
F65	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	< 12 h	∅	Citalopram ++ N-Desmethylocitalopram +++	∅	∅	Citalopram BAK 1,08 ‰
F66	2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	< 24 h	Cetirizin +++ Morphin +	Fluoxetin +++ Norfluoxetin+++ Promethazin-sulfoxid +++	∅	∅	Fluoxetin* Norfluoxetin* Morphin* Promethazin-sulfoxid*
F67	2018	Pol	m	k.A.	Raub	< 6 h	Codein + Morphin ++	∅	∅	∅	Cocain Benzoylcgonin Codein MAM Morphin BAK 0,00 ‰

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F68	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	Cetirizin +++	∅	∅	∅	∅
F69	2017/ 2018	Pol	w	26	Sexualdelikt	< 36 h	Cetirizin + Hydrocodon + Morphin +	Fluoxetin +++ Norfluoxetin +++	∅	∅	Fluoxetin Morphin* BAK 1,44 ‰
F70	2018	Pol	w	20	k.A.	< 12 h	∅	Citalopram + N-Desmethylcitalopram + Olanzapin + Desmethylolanzapin + Thioridazin +	∅	∅	∅
F71	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	< 12 h	Diazepam + Nordazepam ++ Oxazepam + Temazepam ++	∅	∅	∅	Nordazepam
F72	2018	Pol	w	28	Sexualdelikt	< 24 h	∅	Pipamperon (+)	∅	∅	THC-Carbonsäure BAK 2,54 ‰
F74	2018	Pol	w	19	k.A.	k.A.	Cetirizin +++	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure
F75	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	< 24 h	Methadon +++ EDDP +++	∅	∅	∅	EDDP THC-Carbonsäure
F76	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	∅	Fluoxetin (+)	∅	GHB +++	GHB BAK 0,00 ‰
F77	2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	k.A.	Diphenhydramin + Flupirtin + Lorazepam +++ OH-Midazolam +++ Tramadol + O-Desmethyltramadol +	∅	∅	∅	Diphenhydramin* Lorazepam OH-Midazolam* UAK 0,00 ‰
F80	2018	Pol	w	45	k.A.	< 12 h	∅	Venlafaxin +++ O-Desmethylvenlafaxin +++	∅	∅	Venlafaxin* O-Desmethylvenlafaxin* UAK 0,95 ‰
F81	2018	Pol	w	33	Sexualdelikt	k.A.	Diphenhydramin +	∅	∅	∅	Diphenhydramin* UAK 0,01 ‰

Ergebnisse

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F82	2018	Pol	w	19	Sexualdelikt	< 6 h	Morphin (+)	Pipamperon (+)	∅	∅	Benzoylcgonin Morphin* BAK 0,52 ‰
F84	2018	Pol	w	21	Sexualdelikt	k.A.	Cetirizin ++	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure
F85	2018	Pol	m	35	k.A.	k.A.	Methadon + EDDP +	∅	∅	∅	Cannabinoide IM +
F86	2018	Pol	m	57	Raub	< 24 h	Diazepam +++ Nordazepam +++ Oxazepam +++ Temazepam +++	∅	∅	∅	Nordazepam Oxazepam
F89	2018	HA	w	20	k.A.	< 12 h	Cetirizin +++ Dimetinden +++ Morphin ++	∅	∅	∅	Ibuprofen Morphin Paracetamol Propofol
F97	2018	Priv	w	19	k.A.	< 6 h	Cetirizin +++	∅	∅	∅	∅
F99	2018	Pol	w	27	Sexualdelikt	< 24 h	Cetirizin (+)	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcgonin
F102	2018	Pol	w	36	Sexualdelikt	< 24 h	Chlorphenamin ++	∅	∅	∅	Cannabinoide IM + BAK 1,02 ‰ UAK 1,10 ‰
F107	2018	HA	w	22	k.A.	< 24 h	Dehydronorketamin + Norketamin (+)	∅	∅	∅	Cannabinoide IM + Cocain IM + Ecstasy IM + UAK 0,30 ‰
F108	2018	Pol	m	53	k.A.	< 24 h	Cetirizin +	∅	∅	∅	Cannabinoide IM +

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F114	2019	Pol	m	24	Raub	k.A.	7-Aminoclonazepam +++ Codein + Methadon ++ EDDP++ Morphin ++	Pregabalin +++	∅	∅	Benzoylcgonin Buprenorphin Norbuprenorphin Codein* Methadon EDDP Morphin Pregabalin* THC-Carbonsäure AAK 0,37 ‰
F116	2019	Pol	w	25	Raub	< 72 h	Morphin +	Pipamperon +++	∅	∅	Amphetamin Morphin* Pipamperon* THC-Carbonsäure
F117	2019	Pol	w	k.A.	Sexualdelikt	< 24 h	Codein + Morphin ++	∅	∅	∅	Amphetamin Codein* Morphin
F121	2019	Pol	w	23	Sexualdelikt	< 12 h	Nordazepam (+) Oxazepam + Temazepam (+)	∅	∅	∅	Oxazepam THC-Carbonsäure
F128	2019	Pol	w	24	k.A.	k.A.	Dextromethorphan ++ Dextrorphan +++	∅	∅	∅	Benzoylcgonin
F129	2019	Pol	w	18	k.A.	< 24 h	∅	Amisulprid (+)	∅	∅	UAK 0,12 ‰ ∅
F130	2019	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	Lorazepam (+)	∅	∅	∅	Lorazepam* UAK 1,94 ‰
F131	2019	Pol	w	22	k.A.	< 12 h	Morphin (+)	∅	∅	∅	Morphin* UAK 1,29 ‰ BAK 0,81 ‰
F136	2019	Pol	m	33	k.A.	k.A.	Morphin +	∅	∅	∅	Morphin

Ergebnisse

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F138	2019	Pol	m	k.A.	Raub	k.A.	Alprazolam +++ OH-Alprazolam +++	∅	∅	kein Material mehr	Alprazolam OH-Alprazolam Cocain Benzoylcegonin
F141	2019	Priv	w	29	k.A.	< 12 h	Codein (+)	∅	∅	∅	∅
F142	2019	Priv	w	33	k.A.	< 36 h	Dextromethorphan (+) Dextrorphan (+)	Maprotilin (+) Thioridazin (+)	∅	∅	∅
F147	2019	Pol	w	28	k.A.	k.A.	Lorazepam +++	∅	∅	GHB ++	GHB* Lorazepam
F148	2019	Pol	w	53	k.A.	k.A.	Lorazepam ++	∅	∅	∅	Lorazepam
F149	2019	Pol	w	21	Sexualdelikt	k.A.	Cetirizin ++ Morphin (+)	Lamotrigin (+) Promethazin-sulfoxid +++ 7-OH-Risperidon ++	∅	∅	Morphin* Promethazin-sulfoxid*
F151	2019	Priv	w	43	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	Valproinsäure ++	∅
F159	2019/ 2020	Pol	w	24	Sexualdelikt	< 6 h	Methocarbamol ++	∅	∅	∅	Methocarbamol* BAK 1,13 ‰ UAK 1,87 ‰
F160	2020	Pol	w	17	k.A.	< 24 h	Dextrorphan (+)	∅	∅	∅	Amphetamin THC-Carbonsäure
F161	2020	Pol	w	39	k.A.	k.A.	Diphenhydramin ++ Nordiphenhydramin +	∅	∅	∅	Diphenhydramin* Nordiphenhydramin*

Pol = Polizei; Priv = Privat; HA = Hausarzt; w = weiblich; m = männlich; k.A. = keine Angabe; ∅ = negativ; IM + = immunchemischer Test positiv; BAK = Blutalkoholkonzentration; UAK = Urinalalkoholkonzentration; AAK = Atemalkoholkonzentration; *Substanz wäre mit bisherigen Methoden auch erfasst worden, aber keine Angabe im ersten Befund, da eine Nachweisbarkeit der Substanz nicht mit ausreichender Sicherheit möglich war

In der Methode A ließen sich in 45 von 166 Fällen Substanzen nachweisen. Es fanden sich Benzodiazepine in 14 Fällen, Opioide und Antihistaminika jeweils in 17 Fällen, Myotonolytika in zwei Fällen und in sechs Fällen eine andere Substanz. Eine genaue Darstellung der einzelnen Analyten der Methode A erfolgte in Abbildung 22. Hierbei zeigt sich deutlich, dass Cetirizin aus der Gruppe der Antihistaminika und Morphin aus der Gruppe der Opioide am häufigsten detektiert wurden.

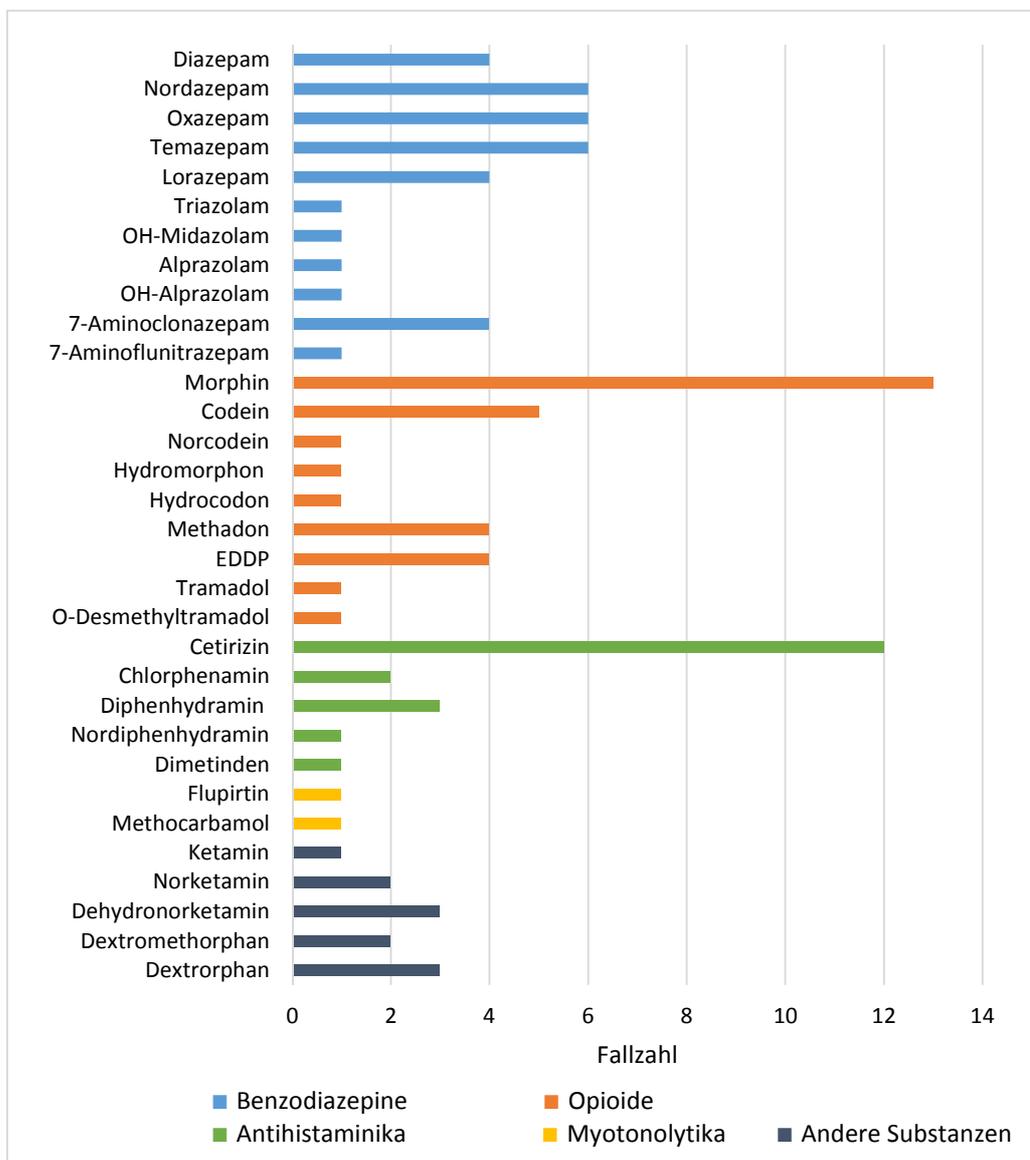


Abbildung 22: Nachgewiesene Substanzen der Methode A

Aus der Untersuchung der K.-o.-Fälle ergaben sich deutlich weniger positive Befunde in der Methode B (23 von 166 Fällen). In neun Fällen wurden Neuroleptika, in sechs Fällen Atypische Neuroleptika, in zwei Fällen Substanzen aus der Gruppe der Trizyklischen Antidepressiva, in vier Fällen Antikonvulsiva und in elf Fällen andere Psychopharmaka nachgewiesen. Abbildung 23 zeigt die detaillierte Aufschlüsselung der Analyten, wobei Citalopram und sein Metabolit N-Desmethylcitalopram am häufigsten detektiert wurden.

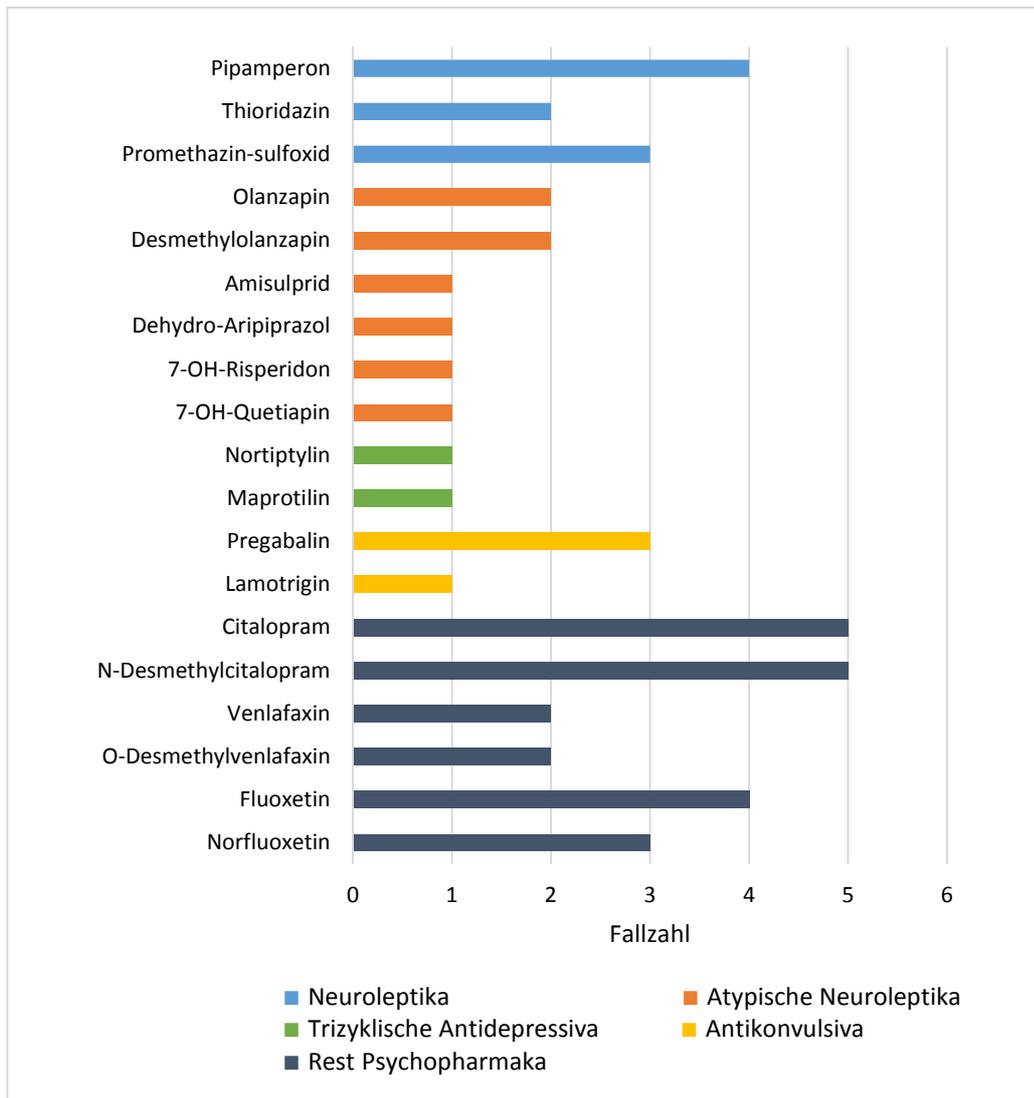


Abbildung 23: Nachgewiesene Substanzen der Methode B

In keinem Fall ließen sich Substanzen der Methode C nachweisen. In vier Fällen wurden Substanzen der Methode D nachgewiesen, davon in drei Fällen GHB und in einem Fall Valproinsäure.

In 53 der 60 positiven Fälle wurden sowohl mit bisherigen Methoden als auch mit der neu entwickelten Methode eine oder mehrere Substanzen identifiziert. Davon ließen sich mit der neuen Methode in 25 Fällen andere bzw. weitere Substanzen nachweisen. So ließen sich zum Beispiel aus vorangegangenen positiven Cannabis-Befunden bei den Personen F74, F84 und F108 jeweils Cetirizin mittels Methode A nachweisen. Bei Person F102 wurde neben Cannabis und über eine Alkoholisierung hinaus (BAK 1,02 ‰) zusätzlich Chlorphenamin detektiert. Betäubungsmittel wie Cocain, Amphetamin, Ecstasy und Cannabis sowie das Psychopharmakon Duloxetin wurden mit der neuen Methode nicht erfasst. Alle anderen bisher positiv detektierten Substanzen wurden mit der neuen Methode ebenfalls bestätigt.

In sechs Fällen, bei denen sich aus vorhergehenden Untersuchungen keine Substanzen nachweisen ließen, wurden mit der neu entwickelten Methode eine Substanz (n= 4 Fälle) und mehrere Substanzen (n= 2 Fälle) identifiziert. In einem weiteren Fall wurde bisher nur die Aufnahme von Alkohol nachgewiesen. Cetirizin wurde bei den Personen F68 und F97, Amisulprid bei Person 129 und Codein bei Person F141 detektiert. In einem Fall ließ sich Valproinsäure (Person F151) mittels Methode D nachweisen. Die Untersuchung der Fälle F70 und F142 verlief für mindestens drei Analyten positiv, wobei mindestens zwei Analyten aus der Gruppe der Psychopharmaka (Methode B) erfasst wurden.

In 50 der 166 K.-o.-Verdachtsfälle (30 %), bei denen sich aus vorherigen Untersuchungen keine Substanzen nachweisen ließen, konnten mit der neuen Methode ebenfalls keine Analyten detektiert werden.

In weiteren 56 Fällen ließen sich ebenfalls keine Substanzen der Methoden A, B, C oder D nachweisen, wobei in 23 Fällen die Untersuchung auf Alkohol positiv verlief und sich in 31 Fällen positive Befunde für Betäubungsmittel, die mit der neuen Methode nicht erfasst wurden, ergaben. So wurden vor allem Cocain, Amphetamin, Ecstasy und Cannabis nachgewiesen. In einem Fall wurde das Psychopharmakon Duloxetin und in einem weiteren Fall das Schmerzmittel Ibuprofen gefunden. Die Fälle (n= 101/166), in denen sich keine Substanzen mit der neu entwickelten Methode nachweisen ließen, wurden in der Tabelle 15 nicht mit aufgeführt. Eine Zusammenfassung aller in die Untersuchung eingeschlossener Fälle wurde in Tabelle 19 im Anhang hinterlegt.

Die Auswertung der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle auf einen vorangegangenen Alkoholkonsum ergab in 26 % (n= 43/166) einen positiven Befund. Dabei wurden Blutalkoholkonzentrationen im Bereich von 0,52 ‰ bis 2,54 ‰ gemessen.

Aus der Untersuchung aller K.-o.-Fälle ließen sich insgesamt in 35 Fällen eine Aufnahme von Cocain, in zehn Fällen von Amphetamin, in elf Fällen von Ecstasy und in 27 Fällen von Cannabis nachweisen. Bei 19 Personen wurden mindestens zwei oder mehr der genannten Betäubungsmittel detektiert.

8 Diskussion

8.1 Auswahl der Substanzen

Die Auswahl der als K.-o.-Mittel angewendeten Substanzen erfolgte nach dem Gesichtspunkt der klassischen Definition von K.-o.-Mitteln mit ihrer sedierenden, hypnotischen Wirkung, welche häufig mit einem Erinnerungsverlust einhergeht. Hierfür wurden mittels systematischer Literaturrecherche Substanzen, die in K.-o.-Verdachtsfällen beobachtet wurden, aber auch die vom DFC-Komitee der Society of Forensic Toxicologists (SOFT) postulierte Liste möglicher K.-o.-Substanzen in die Auswahl für

diese Methode eingeschlossen. Psychopharmaka wie Memantin, Mirtazapin, Mianserin und Atomoxetin, die in ihrem Nebenwirkungsprofil zwar keine Sedierung aufweisen, aber dennoch die Gefahr einer erhöhten Sedierung bei Kombination mit Alkohol bergen, wurden aufgrund dessen in die Untersuchungsmethode eingeschlossen.

Berausende Substanzen mit Sympathikus-erregenden Eigenschaften wie Cocain, Amphetamin, Metamphetamin und Ecstasy (MDA, MDMA, MDEA und MBDB), sowie das dämpfende Betäubungsmittel Cannabis, welche nicht der klassischen Definition von K.-o.-Mitteln entsprechen, wurden dagegen nicht in die Methode aufgenommen.

Für eine bessere Übersicht der zahlreichen Wirkstoffe erfolgte eine Einteilung dieser in elf verschiedene Stoffgruppen, wobei elf Substanzen aufgrund ihrer Heterogenität der Gruppe „Andere Substanzen“ zugeordnet wurden. Im Anschluss wurden die ausgewählten Substanzen im Hinblick auf ihre Pharmakodynamik und -kinetik, aber auch ihre Verfügbarkeit auf dem deutschen Markt sowie ihre Darreichungsform kritisch betrachtet und einer im Folgenden diskutierten Kategorisierung unterzogen.

8.2 Kategorisierung der ausgewählten Substanzen

8.2.1 Kategorie 0

In diese Kategorie wurden die Wirkstoffe eingeteilt, welche nicht in die Methode aufgenommen wurden. Bei der Untersuchung auf K.-o.-Substanzen ging es in dieser Arbeit vorrangig um Stoffe, die einer Person unbemerkt in Flüssigkeiten oder anderen Nahrungsmitteln beigebracht werden können. Voraussetzung hierfür ist eine ausreichende Bioverfügbarkeit der Substanz nach oraler Aufnahme sowie die Verfügbarkeit der Wirkstoffe als Tablette oder auch als Lösung zur oralen Aufnahme. Das Opioid Buprenorphin ist nur als Sublingualtablette, Transdermales Pflaster und Depot-Injektionslösung auf dem Markt vertreten, da der Wirkstoff nach oraler Aufnahme einem First-Pass-Metabolismus unterliegt und laut Fachinformation für diese Art der Anwendung nicht geeignet ist (Fachinfo: Buprenorphin, Stand 2021). Eine unbemerkte Aufnahme von Buprenorphin wurde aufgrund dessen als nicht realistisch betrachtet und so erfolgte keine Untersuchung auf diesen Analyten. Auch die Verabreichung von Wirkstoffen durch Injektion jeglicher Art (i.v., i.m. oder s.c.) oder als Suppositorien (z.B. Metohexital) wurden in dieser Arbeit nicht betrachtet.

Als weitere wichtige Kriterien für die Substanzauswahl wurden die Dosierungen und Ausscheidungsraten der Muttersubstanzen sowie ihrer Metabolite eingehend studiert. Für einen Analyten, der in nur sehr geringen Dosierungen (wenige Milligramm) verabreicht und gleichzeitig zu weniger als ein Prozent im Urin ausgeschieden wird, wurde die Detektierbarkeit im Urin als unwahrscheinlich bewertet, insbesondere bei einem Zeitfenster von einigen Stunden zwischen

Vorfallszeit und Probenasservierung. Aus den Überlegungen heraus wurde eine Grenze der maximalen Tagesdosierung von mindestens 100 mg festgelegt, damit ein Wirkstoff in die Untersuchung eingeschlossen wurde.

So wurden vier Vertreter der Benzodiazepine sowie die Z-Substanz Zaleplon dieser Kategorie zugeordnet, weil maximale Tagesdosierungen in niedrigen Milligramm-Bereichen (z.B. 0,5 mg für Brotizolam oder 2 mg für Loprazolam) liegen und die Muttersubstanzen zu weniger als ein Prozent im Urin ausgeschieden werden, gleichzeitig keine Metabolite zum Zeitpunkt der Methodenentwicklung erwerbbar waren. Des Weiteren werden Prazepam und Ketazolam zu Oxazepam umgewandelt, welches als Metabolit keinen Rückschluss auf die Muttersubstanz zulässt.

Therapeutische Dosierungen des Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmers Duloxetin werden mit maximal 120 mg täglich angegeben. Doch laut Baselt 2017 ist nach Duloxetin-Aufnahme die Muttersubstanz im Urin nicht detektierbar, woraufhin Duloxetin nicht in die Methode aufgenommen wurde, da auch hier keine Referenzsubstanzen der Metabolite verfügbar waren.

Ein Wirkstoff, der in Deutschland nicht mehr zugelassen ist, wurde ebenfalls nicht in die Untersuchung eingeschlossen. Die 1955 eingeführte Substanz Meprobamat ist ein Tranquilizer der neben den Benzodiazepinen Einsatz als Beruhigungsmittel findet (Freissmuth 2020). Aufgrund seines hohen Suchtpotentials und der Gefahr von Intoxikationen vor allem in Kombination mit Alkohol oder anderen Sedativa wurde Meprobamat in Deutschland vom Markt genommen (EMA 2012). In den USA ist der Wirkstoff dagegen weiterhin vertreten und wurde auch vom DFC-Komitee der SOFT in ihre Empfehlung möglicher K.-o.-Substanzen aufgenommen.

8.2.2 Kategorie 1

Wurde ein Wirkstoff in die Kategorie 1 eingeteilt, erfolgte nur die Untersuchung der Muttersubstanzen. Die meisten Analyten wurden aufgrund mangelnder Erwerbbarkeit der Metabolite zum Zeitpunkt der Methodenentwicklung dieser Kategorie zugeordnet. Für elf Wirkstoffe ergaben sich aus der Recherche, über die maximale Tagesdosierung hinaus, keine Informationen zu Ausscheidungsraten im Urin. Daraufhin wurde die Entscheidung getroffen, diese Muttersubstanzen in die Methode aufzunehmen, wobei Doxylamin und Hydroxyzin auch in der Empfehlung der SOFT enthalten sind und somit die hier vorgenommene Kategorisierung bestätigten.

Fünf weitere Substanzen werden nur in sehr geringen Mengen (kleiner ein Prozent) als Muttersubstanz im Urin ausgeschieden, dafür in therapeutischen Dosierungen größer gleich 100 mg eingesetzt, sodass eine Detektion im Urin wahrscheinlich ist. Gleichmaßen wurde mit zwölf Wirkstoffen mit maximalen Tagesdosierungen kleiner 100 mg, aber Ausscheidungsraten der Muttersubstanzen größer ein Prozent verfahren.

Analyten wie Oxazepam, Lorazepam, aber auch Opiode wie Morphin oder Hydromorphon werden im Urin als Glucuronid-Konjugate ausgeschieden. Dabei reagieren die Substanzen im Phase-II-Metabolismus mit aktivierter Glucuronsäure unter der Bildung hydrophiler Konjugate, welche einer verbesserten renalen Elimination unterliegen (Mutschler 2020). Bei der anschließenden Methodenentwicklung wurde eine enzymatische Hydrolyse der Urine durchgeführt, die eine Analyse der Konjugat-gespaltenen Substanzen ermöglichte. So wurde beispielsweise nur die Muttersubstanz Morphin, nicht aber der Metabolit Normorphin, in die Methode aufgenommen, da diese zu 87 % im Urin (dabei zu 75 % als Glucuronid) ausgeschieden wird (Baselt 2017).

8.2.3 Kategorie 2

Für die Substanzen der Kategorie 2 erfolgte nur eine Untersuchung des Metaboliten.

Chloralhydrat ist nach oraler Aufnahme durch eine sehr kurze Halbwertszeit von vier Minuten gekennzeichnet und wird in Trichlorethanol umgewandelt, welches hauptverantwortlich für die Wirkung ist und nach weiterer Verstoffwechslung zum größten Teil als Trichloressigsäure ausgeschieden wird (Baselt 2017).

Tilidin wird als Prodrug charakterisiert, welches in den wirksamen Metabolit Nortilidin umgewandelt wird. Darüber hinaus wird der unwirksame Metabolit Bisnortilidin zu fünf Prozent gebildet (Baselt 2017). Aufgrund dessen wurde Tilidin in die Kategorie 2 eingeteilt, da es selbst zu weniger als 0,1 % im Urin ausgeschieden wird. Bisnortilidin war als Referenzsubstanz zu dem Zeitpunkt der Methodenentwicklung nicht erhältlich, sodass in die Untersuchung nur der Metabolit Nortilidin eingeschlossen wurde.

Die Psychopharmaka Amitriptylin, Doxepin und Promethazin werden in maximalen Tagesdosen von 150 mg und Sertralin von 200 mg eingenommen, aber laut Baselt 2017 nur in Spuren (kleiner 0,2 % bzw. 0,4 %) als Muttersubstanz im Urin ausgeschieden. Aufgrund dessen, und der Verfügbarkeit charakteristischer Metabolite, wurden diese vier Substanzen ebenfalls der Kategorie 2 zugeordnet. Quetiapin aus der Gruppe der atypischen Neuroleptika wird in relativ hoher Dosierung von maximal 800 mg täglich verabreicht. Doch wird in der Literatur für Quetiapin nach oraler Aufnahme eine sehr geringe Bioverfügbarkeit von neun Prozent angegeben (Baselt 2017). Gleichzeitig wird die Muttersubstanz zu weniger als ein Prozent im Urin ausgeschieden, sodass nur der Metabolit 7-Hydroxyquetiapin in die Methode aufgenommen wurde. Die anderen fünf dieser Kategorie zugeordneten Substanzen erfüllten die Kriterien niedriger Tagesdosen kleiner 100 mg sowie sehr geringen Ausscheidungsraten von weniger als ein Prozent der Muttersubstanzen.

8.2.4 Kategorie 3

In diese Kategorie wurden die Substanzen eingeteilt, welche unverändert und gleichzeitig in größeren Mengen als Metabolit im Urin ausgeschieden werden. GHB wurde ebenfalls in diese Kategorie eingeteilt, weil es zum einen selbst als Substanz Anwendung findet, gleichzeitig im Körper auch nach Aufnahme von Gammabutyrolacton (GBL) oder 1,4-Butandiol innerhalb von Sekunden gebildet wird, sodass GHB hier das zu analysierende Target darstellte.

Bei dem Antikonvulsivum Primidon handelt es sich um ein Prodrug, welches im Körper zu Phenobarbital umgewandelt wird. Jedoch erfolgt eine Exkretion im Urin zu 42 % als Primidon und zu fünf Prozent als Phenobarbital (Baselt 2017), sodass Primidon der Kategorie 3 zugeordnet wurde.

Viele Benzodiazepine, die als eigene Wirkstoffformulierungen auf dem deutschen Markt vertreten sind, entstehen auch bei der Verstoffwechslung anderer Vertreter dieser Klasse. So wird zum Beispiel Lormetazepam zum Großteil als Glucuronid ausgeschieden, aber auch zu sechs Prozent als Lorazepam-Glucuronid. Bei der Metabolisierung von Nordazepam, Medazepam und Temazepam wird jeweils Oxazepam gebildet. Nordazepam stellt wiederum einen Metaboliten des Diazepams dar.

Hydrocodon wurde in Kategorie 3 eingeteilt, wobei auch hier die zwei Hauptmetabolite Hydromorphon und Norhydrocodon in die Untersuchung eingeschlossen wurden. Gleichzeitig stellt Hydromorphon einen Wirkstoff mit eigenen Formulierungen dar und wird im Urin hauptsächlich als Glucuronid ausgeschieden. So wurde in Kategorie 3 häufig nicht nur ein Metabolit je Substanz eingeschlossen.

8.3 LC-MS/MS

8.3.1 Tuning

Für insgesamt 19 Substanzen der Kategorien 1, 2 und 3 war ein geringfügig verminderter analytischer Aufwand (Tuning entfallen) notwendig, weil sie aufgrund anderer Fragestellungen, wie zum Beispiel Fahreignung oder Substitutionskontrolle, schon in der Laborroutine etabliert waren.

Das Tuning verlief für die meisten Substanzen ohne Auftreten größerer Schwierigkeiten. Durch das Zufügen verschiedener Kollisions-Energien ließen sich für diese Substanzen mehrere Fragment-Ionen erzeugen und schließlich die zwei intensivitätsstärksten Fragmente als Target- und Qualifier-Ion auswählen. Besondere Herausforderungen ergaben sich dagegen unter anderem für Analyten, die Atome der Halogene Chlor oder Brom enthielten. Hier zeigten sich im Massenspektrum sogenannte Isotopenmuster. So besteht zum Beispiel das Brom-Atom aus den Isotopen ^{79}Br und ^{81}Br , die in gleichen Mengen natürlich vorkommen (Hart 2007). Beim Tuning von Bromazepam und α -Hydroxybromazepam wurden jeweils die Vorläufer-Ionen des Isotops ^{81}Br für die Vermessung ausgewählt.

Des Weiteren stellt die Gruppe der Benzodiazepine mit ihren vielen Vertretern eine große Substanzklasse dar. Einige dieser Analyten, die selbst als Wirkstoffe therapeutischen Einsatz finden, sind gleichzeitig die Metabolite anderer Benzodiazepine. So wird Diazepam zum Beispiel zu Nordazepam, Temazepam und Oxazepam verstoffwechselt, wobei alle drei Metabolite als eigene Arzneimittel-Formulierungen auf dem deutschen Markt zu finden sind. Der Nachweis eines dieser Substanzen lässt also keinen Rückschluss auf das Wahre aufgenommene Benzodiazepin zu. So wurde Clorazepat aufgrund starker in vitro Instabilität und der dadurch schnellen Zersetzung zu Nordazepam nicht in die Methode aufgenommen.

Die Substanzen bzw. Metabolite Hydromorphon, Norcodein und Norhydrocodon aus der Gruppe der Opiode zeigen aufgrund nur geringer Strukturabweichungen zum Morphin, dem Hauptalkaloid des Opiums, dieselbe monoisotopische Masse von 286 g/mol. Beim Tuning dieser vier Analyten wurden jeweils verschiedene Fragment-Ionen mit ebenfalls möglichst hoher Intensität ausgewählt. Die eindeutige Identifizierung erfolgte schließlich aufgrund unterschiedlicher Ionen-Verhältnisse (Ion Ratios) sowie einer Trennung der Chromatogramm-Peaks in der Basislinie durch Retentionszeit-Unterschiede um mindestens 0,4 Minuten.

GHB ist ein sehr kleines Molekül mit nur einer monoisotopischen Masse von 104 g/mol. Um eine eindeutige Identifizierung zu gewährleisten, wurden ein dritter Massenübergang für GHB und ein zweiter Massenübergang für GHB-d6 in die Methode aufgenommen. Auch Elian & Hackett 2011 sowie Mehling et al. 2016 wählten in ihren Arbeiten die MRM-Übergänge für GHB m/z 103 > 85, 57, in der hier entwickelten Methode wurde zusätzlich m/z 103 > 101 für GHB und für GHB-d6 m/z 109 > 90, 61 verwendet.

8.3.2 Chromatographie

Als ein ursprüngliches Ziel dieser Arbeit sollte eine analytische Methode, die alle 143 Substanzen vereint, entwickelt werden. Aufgrund teilweise sehr unterschiedlicher chemischer und physikalischer Eigenschaften der Substanzklassen, konnte dieses Ziel nicht verwirklicht werden. So wurde ein Kompromiss eingegangen, indem ähnliche Substanzgruppen in schließlich vier Methoden aufgeteilt wurden. Hierbei wurden im Vergleich der getesteten Chromatographie-Säulen die besten Ergebnisse mit der Raptor™ Biphenyl-Säule (2,7 μ m, 100 x 2,1 mm) erzielt, die eine optimale Trennung der Analyten sowie gute Peakformen ermöglichte. Die Chromatographie erfolgte unter Verwendung eines wässrig-methanolischen Laufmittels, versetzt mit 0,1 % Ameisensäure, wobei auch mit Ammoniumformiat versetzte, gepufferte Laufmittel-Systeme mit zufriedenstellenden Ergebnissen getestet wurden, diese aber die Gefahr der Ablagerung von Puffersalzen in der Chromatographie-Säule sowie auch im Massenspektrometer bergen. So ist die Verwendung von Wasser und Methanol jeweils versetzt mit Ameisensäure nicht nur sehr einfach und kostengünstig in der Herstellung, sondern auch

vorteilhaft hinsichtlich der Langlebigkeit der Chromatographie-Säule und Verringerung von Verschmutzungen des Massenspektrometers.

Schließlich wurden die Substanzen der Methoden A und B im positiven Ionenmodus jeweils in einen 20-minütigen Gradientenlauf vermessen. Da in der Methode C nur sieben Analyten (inklusive internen Standards) und in der Methode D nur drei Analyten (inklusive internem Standard) enthalten und die meisten dieser Analyten durch saure Eigenschaften gekennzeichnet sind, erfolgte die Chromatographie in einem deutlich kürzeren, achtminütigen isokratisch beginnenden Laufmittelfluss mit anschließenden Gradientenlauf. Die Antikonvulsiva Felbamat und Vigabatrin sowie das Barbiturat Primidon wurden hierbei im positiven, alle anderen Analyten im negativen Ionenmodus vermessen. Aufgrund der technischen Ausstattung des verwendeten Massenspektrometers war es möglich, in einer Methode zwischen positiven und negativen Ionenmodus zu wechseln und die Analyten ohne relevanten Sensitivitätsverlust zu vermessen.

Für die Untersuchung eines K.-o.-Falles wurden die verschiedenen Verdünnungen des Extraktes in das LC-MS/MS System injiziert (eine Injektion je Methode) und in einer Zeit von insgesamt 56 Minuten auf 143 Substanzen analysiert. Remane et al. 2014 veröffentlichten eine Methode zur Untersuchung von Urinproben auf insgesamt 100 Analyten in K.-o.-Verdachtsfällen. Den Autoren dieser Methode war es ebenfalls nicht möglich alle 100 Substanzen in einer Methode zu vereinen und entwickelten schließlich jeweils eine Methode für die Untersuchung im positiven (91 Substanzen) und negativen (neun Substanzen) Ionenmodus. Die Analyse einer Urinprobe erfolgte hierbei in einer deutlich längeren Gesamtlaufzeit von 75 Minuten.

Interne Standards:

Die Entscheidung bei der Auswahl von internen Standards fiel auf die Verwendung von mit Deuterium-Atomen versetzten Substanzen. Diese bringen unter anderem den Vorteil, dass chemische Eigenschaften durch die Deuterierung nicht verändert werden. So zeigten die deuterierten Substanzen eine große Vergleichbarkeit in ihren Retentionszeiten sowie ihrer Fragmentierung mit ihren zugehörigen, nicht deuterierten Analyten. Für eine sehr sensitive Vermessung war es nicht möglich, für alle 143 Analyten entsprechende deuterierte Substanzen in die Methode aufzunehmen. Denn mit zunehmender Anzahl an zu vermessender Massenübergänge sinkt die Scan-Zeit (Dwell-Zeit) pro Analyt, sodass die Aufnahme von mindestens zehn Punkten pro Peak nicht mehr gewährleistet gewesen wäre. Des Weiteren ließ sich nicht für jeden Analyten der Methode ein entsprechender deuterierter Standard erwerben. Schließlich wurde ein Kompromiss eingegangen und über den Retentionszeitraum verteilt, eine Auswahl an deuterierten Substanzen getroffen. Gleichzeitig spielte der Kostenfaktor ebenfalls eine Rolle, da die Herstellung deuterierter Standards mit deutlich höherem Aufwand verbunden ist. So wurde vor allem auf die schon in der Laborroutine zum Einsatz kommenden

deutierten Substanzen zurückgegriffen, was vor allem für Methode A eine große Auswahl ermöglichte.

Aufgrund großer Instabilität von Olanzapin-d8 sowie schlechter Reproduzierbarkeit in Kontrollproben wurde auf die Verwendung von Olanzapin-d8 in dieser Methode verzichtet und nur Venlafaxin-d6 und Quetiapin-d6 als interne Standards für Methode B (Psychopharmaka) ausgewählt.

Obwohl es sich bei der entwickelten Methode um keine quantitative Methode handelt, wurde entschieden, interne Standards zu verwenden. Durch die Auswahl verschiedener deuterierter Standards war stets eine Prüfung auf Veränderungen, wie Retentionszeitverschiebungen, über den gesamten Analysenzeitraum möglich. Darüber hinaus konnte schließlich auch eine Aussage über die Extraktionsgüte getroffen werden.

8.4 Finale Methode

8.4.1 Probenvorbereitung – Verdünnung vs. Festphasenextraktion

Urin stellt ein Untersuchungsasservat dar, welches sich noninvasiv und in ausreichender Menge für die Untersuchung auf eine mögliche K.-o.-Mittel-Beibringung gewinnen lässt. Bei der Entwicklung der Untersuchungsmethode wurde stets mit dem Einsatz von mindestens 1 mL Urin gearbeitet. Remane et al. 2014 arbeiteten dagegen nur mit 400 µL Urin und Kahl et al. 2019 sogar nur mit 50 µL Urin. Bei der Methode von Kahl et al. 2019 erfolgte die Probenvorbereitung durch eine einfache Verdünnung von Urinproben und Remane et al. 2014 führten eine Proteinfällung mit Acetonitril durch. Adamowicz & Kala 2010 setzten für ihre Festphasenextraktion 2 mL Urin ein.

Mit der Verwendung höherer Volumina sollten in dieser Arbeit im Sinne einer hohen Sensitivität möglichst hohe Analytkonzentrationen im Extrakt erzielt werden. Allerdings wären zu große Urinmengen (z.B. 5 mL) wiederum deutlich schwieriger in der Handhabung gewesen, sodass die Entscheidung final auf 1 mL Probeneinsatz fiel.

Im ersten Schritt der Probenvorbereitung erfolgte eine enzymatische Hydrolyse, der im Urin als Glucuronid-Konjugate ausgeschiedenen Substanzen. Hierbei fiel die Wahl auf die Verwendung von β -Glucuronidase aus *E. coli*. mit anschließender Inkubation bei 47 °C über einen Zeitraum von drei Stunden. Die Hydrolyse-Parameter (Enzym, Inkubationszeit sowie Temperatur) finden in der Laborroutine seit langem erfolgreich Anwendung und wurden deshalb für diese Arbeit übernommen. Auf weiterführende Untersuchungen zu Enzymaktivitäten wurde aufgrund dessen verzichtet.

Die weitere Probenvorbereitung sollte sich durch Einfachheit und Praktikabilität auszeichnen, aber gleichzeitig möglichst niedrige Nachweisbarkeitsgrenzen gewährleisten. Es erfolgten Versuche mit einfachen Verdünnungen von Urinproben (siehe 6.3.1). Nach erfolgreichen Erstversuchen dotierter Urinproben in relativ hohen Konzentrationen (20 ng/ml und 100 ng/mL) schlossen sich weitere

Versuche im Bereich gewünschter Nachweisgrenzen von 2,5 ng/mL bis 5 ng/mL an. Hier zeigte sich schnell eine deutliche Verschlechterung der Peakformen und -höhen aufgrund eines hohen Untergrundrauschens. Für viele Substanzen konnte keine eindeutige Identifizierung über ein Signal-Rausch-Verhältnis größer oder gleich drei zu eins erfolgen. Kahl et al. 2019 publizierten eine Urin-Screening-Methode via LC-MS/MS für die Detektion von 52 Substanzen, unter anderem in Fällen einer K.-o.-Mittel-Beibringung. Hierbei erfolgte ebenfalls eine einfache Probenvorbereitung in Form einer Verdünnung der Urine. Insgesamt konnten für 43 Analyten Nachweisgrenzen von 10 ng/mL oder niedriger ermittelt werden. Ein großer Nachteil der einfachen Verdünnung der Urinproben zeigte sich in der Methode von Kahl et al. 2019 bei der Bestimmung von Matrixeffekten, wobei nur 17 der 52 Substanzen die Kriterien (maximale Abweichungen +/- 25 %) erfüllten.

Im Hinblick auf eine deutliche Verbesserung der Sensitivität wurden in dieser Arbeit schließlich verschiedene Festphasen für die Urinextraktion herangezogen (siehe 6.3.2). Hierbei ließen sich vor allem über die Chromabond® HLB-SPE-Säule, mit Ausnahme von GHB und Valproinsäure, alle anderen 141 Substanzen sehr gut extrahieren und in ausreichender Sensitivität vermessen. Schon 2010 wurde eine Methode über den quantitativen Nachweis von 128 Substanzen im Urin durch Adamowicz & Kala veröffentlicht. Für die Probenvorbereitung wurde ebenfalls eine Festphase, vergleichbar mit der in dieser Methode, ausgewählt. Nach der Konditionierung der SPE-Säule mit Methanol und Wasser wurden 2 mL Urin aufgegeben, es folgte ein einfacher Waschschriff mit Wasser und nach anschließender Trocknung unter Vakuum wurden die Substanzen mit einem Gemisch aus Methanol und Isopropanol eluiert. Nach dem Eindampfen unter Stickstoff erfolgten eine Derivatisierung mit BSTFA + 1 % TMCS und schließlich die Vermessung mittels GC-MS. Ein großer Nachteil dieser Methode war die schlechte Sensitivität für viele der 128 Substanzen, Gründe dafür von den Autoren jedoch nicht kritisch diskutiert wurden. So ließe sich vermuten, dass die Vermessung mittels GC-MS, aber auch Verluste durch eine Derivatisierung mögliche Ursachen der starken Einschränkungen der Sensitivitäten waren.

Aufgrund ihres stark sauren Charakters erfolgte eine Extraktion von GHB und Valproinsäure über die Chromabond® HR-XA-SPE-Säule. Diese Festphase ist als starker Anionentauscher besonders für die Extraktion saurer Substanzen geeignet. 2011 wurde von Elian & Hackett 2011 eine Methode zur Untersuchung von Urinproben auf GHB mittels LC-MS/MS aus vorangegangener Extraktion über eine Festphase eines Anionenaustauschers veröffentlicht. Mit dieser Methode konnten eine gute Nachweisgrenze erreicht und keine signifikanten Matrixeffekte nachgewiesen werden. Für eine effektive Elution von GHB wählten Elian & Hackett 2011 Methanol mit sechsprozentiger Essigsäure, was sich auch in dieser Arbeit nach einer ersten Elution mit 1 mL Methanol, als weiterer, zweiter Elutionsschritt bewährte.

Für viele der 143 Substanzen zeigten sich nach der Extraktion der Urinproben über die ausgewählten SPE-Säulen zwar eine gute Sensitivität, aber Matrixeffekte über eine maximal zulässige Abweichung von +/- 25 % hinaus. Dieses Problem konnte durch eine Verdünnung des Rekonstituat vor der Injektion für die meisten Substanzen behoben werden.

8.5 Methodenvalidierung

8.5.1 Interferenzen

Der Test auf Interferenzen wurde durchgeführt, um sicher zu gehen, dass eine eindeutige Identifizierung der Analyten möglich war und Störsignale durch andere Komponenten ausgeschlossen werden konnten. Für fast alle der 143 Substanzen konnten keine relevanten Interferenzen festgestellt werden. Aufgrund der vergleichbaren Ionisierungseigenschaften und Fragmentierungsmuster von Analyten und ihrer entsprechenden deuterierten Substanzen können im Falle hoher Analyt-Konzentrationen Interferenzen auf den Ionenspuren der entsprechenden deuterierten Standards auftreten (Kahl et al. 2019). Lorazepam zeigte dagegen schon in niedrigen Konzentrationen (ab 50 ng/mL) eine Interferenz mit Lorazepam-d4, aufgrund einer eindeutigen Identifizierung durch die Retentionszeit sowie einem Signal-Rausch-Verhältnis größer drei. Trotz der Auswahl verschiedener Fragment-Ionen konnte das Problem nicht behoben werden, sodass Lorazepam-d4 nicht mit in die Methode aufgenommen wurde. Phenobarbital und Pentobarbital unterscheiden sich in ihrer monoisotopischen Masse nur um 6 g/mol. Als Qualifier-Ion wurde für beide Analyten, wie auch in der Literatur zu finden, das Fragment m/z 42,1 ausgewählt (Remane et al. 2014). Beide Analyten unterscheiden sich zum einen in ihren Ionen-Verhältnissen (Ion Ratios) sowie in ihren Retentionszeiten um 0,35 Minuten. Beim Tuning des internen Standards Pentobarbital-d5 wurde ebenfalls das Fragment-Ion m/z 42,1 mit der besten Signalstärke ausgewählt. Hierbei zeigte sich jedoch im Interferenztest ein deutliches Signal auf den Ionen-Spuren des Phenobarbitals mit einem Signal-Rausch-Verhältnis größer drei, aber einer nicht mit Phenobarbital übereinstimmenden Retentionszeit sowie einem anderen Ionen-Verhältnis. Die Entstehung des Signals lässt sich durch die minimale Unterscheidung der Vorläufer-Ionen von Pentobarbital-d5 (m/z 230,1) und Phenobarbital (m/z 231,1) um nur ein Dalton erklären. Die Retentionszeit des Signals entspricht hierbei der des Pentobarbital-d5. Aufgrund der eindeutigen Abgrenzung des Störpeaks zu Phenobarbital wurde Pentobarbital-d5 in der Methode belassen.

8.5.2 Matrixeffekte

Für die meisten der in der Methode enthaltenen 143 Substanzen wurden nach optimierter Probenvorbereitung die Kriterien der Untersuchung auf Matrixeffekte (+/- 25 %) für die niedrige (QC1) und hohe (QC2) Konzentration erfüllt. Die Anzahl der Analyten, die von einem Ionen-Enhancement oder einer Ionen-Suppression gekennzeichnet waren, hielten sich die Waage. Hierbei fiel besonders

ins Augenmerk, dass auftretenden Ionen-Suppressionen ein deutlich größerer Einfluss auf die Detektion von Substanzen zugeschrieben werden konnte. So wurden für Flupirtin und Amantadin die Signalverstärkungen durch Störpeaks mit Abweichungen um maximal 40 % ermittelt, wohingegen deutlich höhere Abweichungen durch Signalunterdrückung bis 150 % für Desmethyloanzapin, bis 101 % für Pimozid, bis 89 % für Norsertralin und bis 70 % für Topiramamat verzeichnet wurden.

Ein möglicher Ansatz Matrixeffekte auszugleichen, war die Verwendung von entsprechenden deuterierten Standards. Aufgrund der hohen Anzahl der in der Methode enthaltenen Analyten sowie fehlender käuflicher Erwerbbarkeit musste eine Auswahl zur Verwendung deuterierter Standards getroffen werden.

In der Methode von Kahl et al. 2019 erfüllten nur 17 von 52 Substanzen die Kriterien bei der Untersuchung auf Matrixeffekte, welche durch die Verwendung entsprechender interner Standards ausgeglichen wurden. Den großen Einfluss der Urinmatrix auf die Analyse begründeten die Autoren mit ihrer gewählten Probenvorbereitung, einer einfachen Verdünnung von Urinproben. Auch in diesen Untersuchungen zeigten sich starke Einflüsse der Urinprobenmatrizes auf die Sensitivität der qualitativen Analyse verdünnter Urine. Matrixeffekte ließen sich schließlich durch die Extraktion von Urinproben über Festphasen erheblich verringern. Unterstützend dazu wurden die Konzentrationen der im Urin enthaltenen Störsubstanzen durch eine Verdünnung der rekonstituierten Extrakte vor der Injektion, ohne einen zu verzeichnenden Sensitivitätsverlust der Analyten, weiter reduziert (Brodacz 2012).

8.5.3 Wiederfindung

Bei der Überprüfung der Extraktionsmethode auf ihre Effektivität wurden für 96,5 % der Analyten (138/143) jeweils in den niedrigen (QC1) und hohen (QC2) Konzentrationen Wiederfindungsraten größer 50 % ermittelt und somit die Anforderungen der Richtlinien erfüllt (GTFCh 2009).

Die Extraktion von fünf Substanzen (Clomethiazol, Pregabalin, Vigabatrin, Valproinsäure und GHB) ging mit einem großen Verlust an Analyt-Konzentration einher. Bei den Analyten Clomethiazol, Pregabalin und Vigabatrin handelt es sich um Wirkstoffe mit sauren Eigenschaften, sodass die Auswahl der HLB-Festphase für die geringen Wiederfindungsraten ursächlich schien. Trotz der Verwendung des für sehr saure Analyten geeigneten Festphasenmaterials (HR-XA-SPE) gelang es nicht GHB und Valproinsäure mit ausreichender Effektivität zu extrahieren. Die fünf Analyten zeigten bei der Vermessung dennoch eine sehr gute Sensitivität im niedrigen Konzentrationsbereich und die vom DFC Komitee empfohlenen Detektionslimits konnten erfolgreich erreicht werden. Darüber hinaus konnte davon ausgegangen werden, dass auch aufgrund der hohen Dosierungsbereiche von bis zu mehreren Milligramm die Detektion dieser fünf Analyten mit ausreichender Sensitivität möglich war.

Remane et al. 2014 ermittelten in ihrer qualitativen Methode für alle 100 Substanzen sehr gute Wiederfindungsraten größer 90 %. Doch waren Clomethiazol, Vigabatrin und Valproinsäure in deren Methode nicht enthalten, sodass hinsichtlich dieser Analyten kein Vergleich gezogen werden konnte. Die Extraktion von GHB konnten Remane et al. 2014 im Gegensatz zu der hier entwickelten Methode ebenfalls als sehr effektiv, mit einer Wiederfindung von 92 % bestätigen. In dieser Arbeit erfolgte eine einfache Proteinfällung der Urinproben mit Acetonitril. Der Überstand wurde nach dem Eindampfen mit Laufmittel (50 mM Ammoniumformiat-Puffer + 0,75 % Ameisensäure) angelöst und vermessen.

Adamowicz & Kala 2010 bestimmten für ihre Extraktionsmethode via SPE ebenfalls Wiederfindungsraten. Doch konnten hier nur 64 der insgesamt 128 Substanzen zu mehr als 50 % nach der Extraktion wiedergefunden werden. Die Autoren begründeten diese Ergebnisse mit der sehr großen Heterogenität der Ionisierungseigenschaften der vielen Analyten. Sie ermittelten für GHB und Valproinsäure jeweils eine ausreichende Wiederfindung von 67 %. Pregabalin, Clomethiazol und Vigabatrin wurden in dieser Methode nicht vermessen (Adamowicz & Kala 2010).

Zur Bestätigung der Auswahl geeigneter interner Standards wurden in dieser Arbeit gleichermaßen für die deuterierten Substanzen Wiederfindungsraten bestimmt. Für diese Analyten konnte ebenfalls das Kriterium der GTFCh, mit Ausnahme von GHB-d6, erfolgreich erfüllt werden und somit die entwickelte Extraktionsmethode als ausreichend effektiv bestätigt werden. Daraus ließ sich schlussfolgern, dass die ausgewählten internen Standards einen geeigneten Indikator zur steten Prüfung der Methode auf etwaige Veränderungen, wie die Extraktionsgüte oder auch Retentionszeitverschiebungen darstellten.

8.5.4 Limit of Detection (Nachweisgrenzen)

Für die Ermittlung des Detektionslimits von Substanzen stehen nach den Richtlinien der GTFCh zwei Methoden zur Verfügung. Zum einen ließe sich die Nachweisgrenze mittels Dotierung von Urinproben im Konzentrationsbereich der erwarteten Detektionslimits durch Überprüfung des Signal-Rausch-Verhältnisses (muss größer drei sein) ermitteln oder zum anderen durch die Erstellung von Kalibrationskurven im Bereich der zu erwartenden Nachweisgrenzen und der nachfolgenden Auswertung nach DIN 32646 (GTFCh 2009). Im Hinblick auf die Überprüfung der tatsächlichen Leistungsfähigkeit der entwickelten Methode wurden die Nachweisgrenzen der Substanzen mit dem Programm Valistat nach DIN-Methode ermittelt. Gleichzeitig konnte man sich mit dem Programm die Bestimmungsgrenzen für jeden Analyten berechnen lassen, die aber nur bei der Validierung quantitativer Methoden eine Rolle spielen. Die Bestimmungsgrenzen der Substanzen wurden dennoch im Anhang informativ mit aufgeführt (Tabelle 18).

Die vom DFC-Komitee der SOFT veröffentlichte Substanzliste mit Empfehlungen zu Nachweisgrenzen für die Untersuchung von K.-o.-Verdachtsfällen wurde in dieser Arbeit als maßgeblich angesehen (Marinetti 2017). Insgesamt zeigte die in dieser Arbeit entwickelte Methode eine sehr gute Sensitivität

mit niedrigen Nachweisgrenzen kleiner 5 ng/mL für die meisten der 143 ausgewählten Substanzen. Auch die von der SOFT empfohlenen Nachweisgrenzen der beiden sauren Analyten GHB und Valproinsäure mit 10000 ng/mL und 5000 ng/mL ließen sich erfolgreich unterschreiten.

Für die Analyten Tramadol (LOD 12,1 ng/mL), O-Desmethyltramadol (LOD 12,5 ng/mL), Norfluoxetin (LOD 16,7 ng/mL) und O-Desmethylvenlafaxin (LOD 13,8 ng/mL) konnten die Empfehlungen von 10 ng/mL knapp nicht erfüllt werden. Im Vergleich zur SOFT-Empfehlung von 50 ng/mL ergab sich für das Antikonvulsivum Topiramamat mit 102 ng/mL eine deutlich höhere Nachweisgrenze. Topiramamat unterlag bei der Untersuchung auf Matrixeffekte einer starken Ionen-Suppression, sodass hierdurch von einem Einfluss auf die Nachweisgrenze ausgegangen werden kann. Weiterhin gab das DFC-Komitee für die Untersuchung der Barbiturate Konzentrationen von 25 ng/mL als minimales Detektionslimit an. Auch die Barbiturate unterlagen dem Einfluss von Matrixeffekten, die sich zwar durch die Verwendung der entsprechenden internen Standards Pentobarbital-d₅ und Phenobarbital-d₅ ausgleichen ließen, aber diese Analyten dennoch nicht in ausreichender Sensitivität mit der entwickelten Methode detektiert werden konnten. So wurden Nachweisgrenzen für Pentobarbital und Phenobarbital von 64 ng/mL und 337 ng/mL ermittelt.

Remane et al. 2014 erfüllten dagegen mit ihrer qualitativen Methode mittels LC-MS/MS die von der SOFT empfohlenen Anforderungen an Nachweisgrenzen für alle 100 Substanzen. Dagegen war es Adamowicz & Kala 2010 mit ihrer Methode nicht möglich, ausreichend niedrige Detektionslimits mittels GC-MS zu erreichen.

8.5.5 Stabilität

Die meisten der in der Methode enthaltenen Substanzen (87 %) waren in den rekonstituierten Extrakten über einen Zeitraum von 96 Stunden bei einer Temperatur von 8 °C stabil.

Nur Desalkylflurazepam, Nitrazepam, 7-Aminonitrazepam, α -Hydroxybromazepam, 7-Aminoclonazepam, Nordazepam und Topiramamat zeigten in der Untersuchung eine sehr starke Degradation in den ersten 24 Stunden. In einer von Mata 2016 durchgeführten Studie zu Stabilitäten von 23 Benzodiazepinen in verschiedenen Matrices wurden ebenfalls große Instabilitäten, vor allem der Nitro-Benzodiazepine, festgestellt. Hierbei waren gekühlte Proben deutlich instabiler im Vergleich zur Lagerung bei -20 °C. Der in dieser Arbeit durchgeführte Stabilitätstest wurde zwar nicht wie bei Mata 2016 im Urin durchgeführt, doch zeigten die Analyten in den Extrakten ein vergleichbares Verhalten. Eine Instabilität von Substanzen in rekonstituierten Extrakten führt gleichzeitig zu einer Verschlechterung des Detektionslimits. K.-o.-Verdachtsfälle sollten aufgrund dessen nach der Probenvorbereitung schnellstmöglich vermessen werden. Gleichzeitig sollten zur Stabilisierung des pH-Wertes (Anilanmert et al. 2016) und damit der Vermeidung von Degradationen eingesendete Urinproben sofort aliquotiert und bis zur Bearbeitung bei -20 °C eingefroren werden, da aufgrund

polizeilicher Ermittlungen zwischen Probenasservierung und Auftragstellung längere Zeiträume liegen können.

8.6 Diskussion der Untersuchung realer K.-o.-Verdachtsfälle aus dem Institut für Rechtsmedizin Hamburg

8.6.1 Erstellung des Untersuchungskollektivs und Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle mit der entwickelten Methode

In einem Zeitraum von 40 Monaten wurden im Institut für Rechtsmedizin Hamburg insgesamt 214 Fälle mit Verdacht einer K.-o.-Mittel-Beibringung analysiert. Mit der neu entwickelten qualitativen Methode sollten die Urinproben retrospektiv nachuntersucht werden.

In die Nachuntersuchung wurden insgesamt 166 K.-o.-Verdachtsfälle eingeschlossen. In den Jahren 2017 bis 2019 blieben die Fallzahlen relativ ausgeglichen, es ließ sich kein Trend beobachten. Hierbei sollte allerdings erwähnt werden, dass im Institut für Rechtsmedizin Hamburg mehr Urinproben bzw. Blutproben von Personen einer möglichen K.-o.-Mittel-Beibringung zur alleinigen Asservierung eingehen, die aber aufgrund fehlender Untersuchungsaufträge (noch) nicht untersucht werden dürfen. Auch in anderen Ländern wurden Studien zur Untersuchung von K.-o.-Mitteln mit vergleichbaren Fallzahlen durchgeführt. Eine kanadische Studie aus dem Jahr 2009 von DuMont et al. umfasste 184 Personen (in 22 Monaten) und in einer ersten Veröffentlichung aus Südafrika von Tiemensma & Davies 2018 wurden 106 K.-o.-Verdachtsfälle (in 33 Monaten) untersucht. Die aktuellste Studie zur Untersuchung von K.-o.-Fällen kam 2020 aus Neuseeland von Poulsen et al., die in einem Zeitraum von 36 Monaten insgesamt 162 Fälle analysierten. Dagegen veröffentlichten Hindmarch et al. 2001 eine Studie mit 3303 K.-o.-Fällen (in 44 Monaten), Fiorentin & Logan 2019 eine Studie über die Untersuchung von 1000 K.-o.-Fällen (in 12 Monaten) und die Studie von Scott-Ham & Burton 2005 umfasste ein Kollektiv von 1014 (in 32 Monaten) Personen. Es zeigt sich deutlich, dass vor allem in den beiden Studien aus den USA aufgrund der großen Population hohe Fallzahlen untersucht werden konnten.

In diese Studie wurden alle Fälle eingeschlossen, deren Rückstellprobe mindestens 2 mL Urin umfasste, wobei ein Fall dahingehend ausgenommen wurde. Bei Person F138 aus dem Jahr 2019 ergab die Untersuchung mit bisherigen Methoden positive Befunde für Cocain und das Benzodiazepin Alprazolam, aber einen negativen Befund für GHB. Im Hinblick auf die Überprüfung der in dieser Arbeit entwickelten Methode wurde entschieden, die zur Verfügung stehende Menge Urin (1 mL) zu verwenden und den Fall auf alle Substanzen (Methoden A, B und C) außer GHB und Valproinsäure (Methode D) zu untersuchen. In einem weiteren Fall (Person F156) handelte es sich um einen Privatauftrag aus dem Jahr 2019 mit dem Verdacht der unbemerkten Beibringung von Substanzen

einer pflegebedürftigen Person in einem Pflegeheim, sodass auch hier keine Untersuchung der Urinprobe in Methode D erfolgte.

Die meisten Rückstellproben wurden im Tiefkühlschrank bei -20 °C gelagert, neun Proben im Kühlschrank bei 8 °C. Acht der gekühlten Proben waren aus dem Jahr 2018, eine Probe aus dem Jahr 2019. Ein konkreter Grund für die unterschiedliche Asservierung der Proben konnte nicht ermittelt werden. Da fast alle der neun Urine als klinische Proben im Institut für Rechtsmedizin Hamburg über die zentrale Notaufnahme des UKE oder anderer Hamburger Kliniken eingesendet wurden, lag die Vermutung nahe, dass die Proben gleichermaßen wie andere Klinikproben (Lagerung bei 8 °C) behandelt wurden. Mittlerweile wurde intern die Asservierung dahingehend angepasst, dass Proben aller K.-o.-Verdachtsfälle unabhängig vom Einsender bis zur Analyse bei -20 °C gelagert werden.

Bei der Vermessung der Echtproben wurden pro Analysenserie jeweils zwei frisch dotierte Kontrollproben mitgeführt. Da es sich bei der entwickelten Methode um eine qualitative Analyse handelt, wurden die Analyten der Kontrollproben in Konzentrationsbereichen, die eine sichere Detektion der Substanzen ermöglichte, dotiert. Die Mitführung von Kontrollproben ermöglicht zum einen die Überprüfung der aktuellen Geräteperformance und zum anderen lässt dies eine Einschätzung von positiven Echtproben zu. So ist es möglich, einen positiven Befund als „Spur“, „schwach positiv“, „positiv“ oder „stark positiv“ zu bewerten.

8.6.2 Auswertung der K.-o.-Fälle hinsichtlich Alter, Geschlecht, Auftraggeber, Delikt, Vorfallszeit und Zeitpunkt der Probenasservierung

Auftraggeber

Eine Beauftragung zur Untersuchung auf K.-o.-Substanzen erfolgte in über 80 % der untersuchten Fälle durch die Polizei. Im Jahr 2017 wurde von nur zwei Personen ein privater Auftrag zur K.-o.-Mittel-Untersuchung gestellt, im Jahr 2018 waren es dagegen sechsmal so viele Privataufträge. Eine Beauftragung durch den Hausarzt mittels Überweisung gab es im Jahr 2017 nicht, in den Jahren 2018 und 2019 jeweils drei- bzw. viermal (Abbildung 10). So kann in einem begründeten Verdachtsfall der Hausarzt mittels Überweisungsschein einen Auftrag an die Rechtsmedizin zur Untersuchung auf K.-o.-Substanzen stellen, wobei die Kosten durch die Krankenkasse übernommen werden (K.-o.-Tropfen-Flyer 2015). Hierbei handelt es sich um noch kein einheitliches System der Bundesländer. Für Betroffene von sexualisierter Gewalt besteht auch die Möglichkeit eine vertrauliche Spurensicherung durchführen zu lassen, bevor eine Entscheidung darüber getroffen wird, ob eine Anzeige bei der Polizei erfolgen soll. In vielen Bundesländern müssen die Kosten dafür von den Geschädigten bisher selbst getragen werden. Im Oktober 2019 wurde durch den Gesundheitsminister Jens Spahn eine bessere Unterstützung der Betroffenen durch eine Kostenübernahme der anonymen Spurensicherung von den Krankenkassen auf Bundesebene zugesagt (Deutschlandfunk 2019). Hierunter fällt neben der

Sicherung von Spermaspuren auch die Untersuchung auf K.-o.-Substanzen. Aufgrund dieser Entscheidung ließen sich in Zukunft möglicherweise mehr K.-o.-Verdachtsfälle bestätigen, da viele Opfer in der Vergangenheit aufgrund unklarer Finanzierung keine Probe abgaben und vor allem der zeitliche Faktor zwischen Vorfallszeit und Probenasservierung eine entscheidende Rolle im Nachweis von K.-o.-Mitteln spielt.

Geschlecht, Delikt und Alter

Insgesamt waren dreiviertel der in die Untersuchung eingeschlossenen Personen weiblich, wobei auch in der Betrachtung der Jahre 2017 bis 2019 die Verteilung zwischen weiblich und männlich konstant blieb (Abbildung 12). In bisher veröffentlichten Studien zur Untersuchung von K.-o.-Substanzen waren deutlich über 90 % der Personen weiblich (Poulsen et al. 2020; Fiorentin & Logan 2019; Tiemensma & Davies 2018; DuMont et al. 2009; Hurley et al. 2006). In der Studie von Bertol et al. 2018 wurden dagegen nur Frauen eingeschlossen und Hindmarch et al. 2001 machten gar keine Angaben zum Geschlecht oder Alter ihrer untersuchten 3303 K.-o.-Fälle.

Die K.-o.-Mittel-Beibringung erfüllt in Deutschland nach Strafgesetzbuch den Tatbestand einer gefährlichen Körperverletzung nach §§ 223, 224 StGB. Von den Tätern darüber hinaus begangene Anschlussstaten, wie Sexualdelikte, wurden in den hier untersuchten Fällen nur von einer männlichen Person, ansonsten ausschließlich von Frauen zur Anzeige gebracht. Männer zeigten dagegen im Zusammenhang mit K.-o.-Substanzen Raubdelikte an.

Der im Vergleich zu anderen Studien deutlich höhere Anteil an männlichen Personen in der hier durchgeführten Untersuchung wurde erhalten, weil hier alle K.-o.-Verdachtsfälle, unabhängig von den darüber hinaus gehenden Delikten, eingeschlossen wurden. In allen anderen Studien (Poulsen et al. 2020; Fiorentin & Logan 2019; Tiemensma & Davies 2018; DuMont et al. 2009 und Hurley et al. 2006) wurden ausschließlich K.-o.-Verdachtsfälle in Verbindung mit Sexualdelikten (DFSA) untersucht.

In 128 der 166 hier untersuchten K.o.-Verdachtsfälle konnte das Alter der Personen aus den Daten ermittelt werden. Dabei waren 69 % der Personen (n= 88/128) im Alter von 17 bis 30 Jahren. Es wurde ein Median von 31,5 Jahren und ein Mittelwert von 33,5 Jahren der Geschädigten, bei einer Alterspanne von 13 bis 78 Jahren ermittelt. Das Untersuchungskollektiv von Poulsen et al. 2020 war im Vergleich zu dieser Arbeit im Median 22 Jahre und im Mittel 25 Jahre alt mit einer Alterspanne von zwölf bis 55 Jahren. Bertol et al. 2018 ermittelten in ihrer Studie ebenfalls einen Altersmedian mit 22 Jahren, bei einer Alterspanne von sieben bis 54 Jahren und vergleichbar mit der hier vorliegenden Arbeit waren 69,2 % der Personen im Alter von 18 bis 30 Jahren. In der Veröffentlichung von DuMont et al. 2009 war das Untersuchungskollektiv sogar in 73,3 % der Fälle zwischen 16 und 29 Jahren alt. In der Studie aus Südafrika von Tiemensma & Davies 2018 wurde eine Alterspanne mit 18 bis 55 Jahren ermittelt, mit einem Median von 25 Jahren und einem Mittel von 27 Jahren. Dagegen war das Kollektiv

von Hagemann et al. 2013 aus Norwegen das bisher Jüngste mit 21 Jahren im Median und 24 Jahren im Mittel, bei einer Altersspanne von zwölf bis 61 Jahren.

Im Vergleich zu anderen Studien umfasste die Altersspanne in der hier durchgeführten Studie einen deutlich größeren Bereich bis zu einem Alter von 78 Jahren. Daraus ergibt sich schließlich auch der größere Median und Mittelwert der Untersuchung.

Die Auswertung dieser Daten sowie die Daten aus anderen Studien zeigten dennoch deutlich, dass vor allem Personen jüngeren Alters von K.-o.-Mittel-Bebringungen betroffen sind. Personen im Alter von 18 bis 30 Jahren stellen dabei den größten Anteil der Gesellschaft dar, die regelmäßig in Clubs und Bars feiern und damit einem höheren Risiko ausgesetzt sind, Opfer einer K.-o.-Mittel-Bebringung zu werden.

Vorfallszeit und Zeitpunkt der Probenasservierung

Bei der Auswertung der verfügbaren Daten der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle konnte eine Zeitspanne von einer Stunde (in zwei Fällen) bis 72 Stunden (in einem Fall) zwischen Vorfallszeit und Probengewinnung ermittelt werden. In den meisten Fällen erfolgte die Probenasservierung innerhalb von 24 Stunden (n= 86/111; 77,5 %) nach dem Vorfall.

In den Studien von Tiemensma & Davies 2018 und Hindmarch et al. 2001 wurden in jeweils 73 % der Fälle Proben innerhalb von 24 Stunden asserviert, bei der Untersuchung von Poulsen et al. 2020 sogar in 80,2 % der Fälle. Im Untersuchungskollektiv von DuMont et al. 2009 ließen sich dagegen nur in 60,1 % der Fälle Proben innerhalb der ersten 24 Stunden asservieren.

Große zeitliche Verzögerungen zwischen Vorfallszeit und Probenasservierung bergen die Gefahr von negativen Untersuchungsergebnissen. Die Aufnahme unbekannter Mengen potentieller K.-o.-Substanzen, die interindividuelle Verstoffwechslung sowie große Unterschiede in Halbwertszeiten und der damit einhergehenden teilweise sehr geringen Nachweisbarkeitsdauer der verabreichten Substanz im Urin spielen hierbei eine entscheidende Rolle (Kintz 2014).

Des Weiteren berichten die Geschädigten häufig von, mit dem Vorfall einhergehenden, Erinnerungslücken, der sogenannten anterograden Amnesie. Der Wunsch, das Geschehene mit den vorhandenen Erinnerungen in Einklang bringen zu wollen, aber auch Schamgefühle, führen nicht selten zu einem späten Anvertrauen der Betroffenen an Ärzte bzw. an die Polizei (Papadodima et al. 2007).

8.6.3 Diskussion der Analysenergebnisse der K.-o.-Verdachtsfälle

Mit der neu entwickelten Methode ließen sich in 60 der 166 untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle eine oder mehrere Substanzen nachweisen. In den Jahren 2017 und 2019 wurden jeweils in etwa 30 % der Fälle, im Jahr 2018 dagegen in ca. 46 % der Fälle Analyten der Methoden A, B, C oder D detektiert.

In jeder Probenserie wurden Kontrollproben mitgeführt, mit Hilfe derer ein Vergleich der in den Echtfällen nachgewiesenen Substanzen hinsichtlich ihrer Signalstärken durchgeführt wurde.

Es wurde schließlich eine Einschätzung abgegeben, ob es sich hierbei um lediglich eine Spur des Analyten handelte, dieser schwach positiv, positiv oder stark positiv war.

Eine Probenasservierung erfolgte in den meisten Fällen mit positivem Analysenergebnis (n= 33) innerhalb der ersten 24 Stunden. In 22 Fällen ließ sich aufgrund fehlender Tatzeit oder Angabe der Probenabgabe kein Zeitintervall ermitteln. Drei Personen gaben eine Urinprobe zwischen 24 und 36 Stunden nach dem Vorfall ab. Dabei ließ sich bei Person F142 nur noch eine Spur Dextromethorphan und sein Metabolit Dextrorphan sowie Spuren der Psychopharmaka Maprotilin und Thioridazin nachweisen, welche in der vorangegangenen Analyse mittels GC-MS nicht detektiert wurden. Aus der Untersuchung der Urinprobe von Person F49 ergab sich dagegen ein stark positiver Befund für Cetirizin und bei Person F69 für Fluoxetin sowie dessen Metabolit Norfluoxetin. Ob es sich hierbei um eine unbemerkte Beibringung dieser Substanzen handelte oder um die eigene Medikation der Geschädigten, ließ sich aus den Fallinformationen nicht ermitteln. So wäre im Falle der eigenen Medikation eine Aufnahme der Substanzen nach dem Vorfall ebenfalls nicht auszuschließen. Dieser Verdacht ergab sich auch aus den Untersuchungsergebnissen der Fälle F40 und F116, in denen eine Probenasservierung erst nach ca. 43 Stunden und 64 Stunden erfolgte. Bei Person F40 wurden Citalopram und sein Metabolit N-Desmethylcitalopram und bei Person F116 Pipamperon nachgewiesen und diese Ergebnisse in beiden Fällen jeweils als stark positiv bewertet. Eine entsprechende Konstellation wäre nach einer Beibringung durch fremde Hand aufgrund des langen Zeitintervalls nicht zu erwarten gewesen.

Insgesamt wurde in 39 Fällen mit der neu entwickelten Methode nur eine Substanz nachgewiesen, wobei die gleichzeitige Detektion von Muttersubstanz und ihrer Metabolite als ein Wirkstoff betrachtet wurde. In 15 Fällen wurden zwei bis drei Analyten nachgewiesen und bei sechs Personen verlief die Untersuchung der Urinproben sogar für vier bis sechs Substanzen positiv. Bei der näheren Betrachtung der Fälle mit multiplem Substanzgebrauch fällt vor allem die häufige Kombination von Wirkstoffen aus den Gruppen der Benzodiazepine, der Opiode sowie Antihistaminika ins Auge. Inwiefern eine unbemerkte Beibringung stattfand, ließ sich auch in diesen Fällen aufgrund fehlender detaillierter Informationen nicht ermitteln. Doch wäre dieses Szenario nur schwer vorstellbar, sodass eher die Vermutung des Nachweises der eigenen Medikation der Geschädigten oder der freiwilligen Aufnahme im zeitlichen Zusammenhang mit dem Vorfall nahe lag. So ließen sich zum Beispiel bei den Personen F26 und F114 jeweils die Aufnahme von Clonazepam, Morphin, Methadon und Pregabalin mit der neu entwickelten Methode nachweisen und zusätzlich jeweils Buprenorphin und Cocain aus vorangegangenen Routine-Untersuchungen.

Grela et al. 2018 und Prego-Meleiro et al. 2020 führten in ihren Veröffentlichungen an, dass die freiwillige Substanzeinnahme der Geschädigten als „opportunistische K.-o.-Mittel-Beibringung“ zu definieren sei, dadurch, dass die Täter den Zustand der Beeinträchtigung bzw. Intoxikation für ihre Zwecke ausnutzen.

Insgesamt wurden in 45 von 166 K.-o.-Verdachtsfällen Substanzen der Methode A detektiert. Dabei ließen sich meist Vertreter aus der Gruppe der Benzodiazepine, Opioide und Antihistaminika nachweisen. In den Urinproben von sechs Personen wurden Nordazepam, Oxazepam und Temazepam stets gemeinsam detektiert, in vier der Urinproben zusätzlich Diazepam. Eine Aufnahme von Lorazepam und Clonazepam konnte in jeweils vier Fällen nachgewiesen werden. Entgegen der in den Medien dargestellten häufigen Beibringung von Rohypnol® (Flunitrazepam) als K.-o.-Mittel, ließ sich diese in der hier durchgeführten Untersuchung nicht bestätigen. Nur in einem Fall wurde das Abbauprodukt 7-Aminoflunitrazepam detektiert, wobei eine unbemerkte Beibringung hier fraglich erschien, da gleichzeitig eine Aufnahme fünf weiterer Wirkstoffe nachgewiesen wurde.

In einer von Hindmarch & Brinkmann 1999 durchgeführten Studie wurde ebenfalls nur eine geringe Prävalenz von 0,6 % (n= 6/1033) für Flunitrazepam ermittelt, dagegen ließ sich in 12 % der Fälle ein anderer Vertreter aus der Gruppe der Benzodiazepine nachweisen. Scott-Ham & Burton 2005 konnten dagegen in keiner der 1014 untersuchten Urin- oder Blutproben Flunitrazepam detektieren.

2013 beschrieben Ramadan et al. eine Serie von K.o.-Mittel-Beibringungen in Brüssel. Die Geschädigten waren Reisende asiatischer Herkunft, denen Kekse von einer ihnen unbekannt Person angeboten und die Reisenden anschließend ausgeraubt wurden. Der Täter konnte schließlich überführt und in den Keksen, die er bei sich führte, Flunitrazepam nachgewiesen werden.

Eine der am häufigsten detektierten Substanzen der Methode A war das Antihistaminikum Cetirizin (n= 12). Die Beschaffung zur Verwendung als K.-o.-Mittel stellt für die Täter aufgrund der freien Verkäuflichkeit keine Hürde dar. Darüber hinaus konnte eine Aufnahme von Cetirizin als Selbstmedikation durch die Geschädigten ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

Die gleichzeitige Aufnahme von Alkohol und Cetirizin kann aufgrund der sich potenzierenden Wirkungen eine deutlich stärkere Sedierung hervorrufen (LeBeau & Mozayani 2001). So ist es, neben der Fremdbeibringung, auch denkbar, dass durch eine Aufnahme von Cetirizin durch die Geschädigten selbst in Kombination mit der Aufnahme subjektiv gewohnter Alkoholmengen bei einer auftretenden starken Sedierung der Eindruck eines gespickten Getränkes entsteht. Deshalb ist die Durchführung einer ausführlichen Arzneimittelanamnese bei den Geschädigten für die Bewertung der Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Abgrenzung einer Fremdbeibringung von einer Selbstmedikation besonders wichtig.

Des Weiteren wurde Morphin in 13 der 60 positiven Fälle nachgewiesen. Mit der neu entwickelten Methode ließ sich ein Detektionslimit von 0,9 ng/mL für Morphin ermitteln. Untersuchungsmethoden zur Bearbeitung von K.-o.-Verdachtsfällen sollten möglichst empfindlich sein, um eine Detektion potentieller K.-o.-Substanzen auch in Spurenbereichen zu ermöglichen. Es ist bekannt, dass der Verzehr von Mohnprodukten ebenfalls positive Befunde für Morphin und Codein hervorruft (EISOHLY et al. 1988; Andresen & Schmoldt 2004). Damit ließe sich auch die relativ hohe Prävalenz von Morphin, die sich aus der durchgeführten Untersuchung ergab, erklären. Nur in einem Fall konnte Morphin allein nachgewiesen werden, in den zwölf anderen Fällen ließen sich zusätzlich eine oder mehrere weitere Arzneistoffe und/ oder illegale Betäubungsmittel detektieren. Eine Bewertung, ob es sich in den Fällen um eine Fremdbeibringung handelte oder nicht, war aufgrund fehlender Informationen nicht möglich und oblag den weiteren Ermittlungen der Polizei bzw. anderer Auftraggeber.

In deutlich weniger Fällen ließen sich Analyten der Methode B nachweisen. Hierbei ergaben sich die meisten positiven Befunde für Citalopram und seinen Metabolit N-Desmethylocitalopram bei fünf Personen und für Pipamperon sowie Fluoxetin bei jeweils vier Personen. In keinem dieser Fälle wurde das Psychopharmakon allein detektiert. So wurde zum Beispiel bei jeweils zwei Personen neben dem positiven Befund für Citalopram die Aufnahme von Alkohol sowie Cocain zusätzlich nachgewiesen. Es stellte sich die Frage, ob die detektierten Psychopharmaka der Medikation der Geschädigten entsprachen und der Zustand einer Beeinträchtigung durch die gleichzeitige Aufnahme von Alkohol oder illegaler Betäubungsmittel hervorgerufen wurde. Ein weiteres Szenario wäre die unbemerkte Beibringung der in Methode B enthaltenen Substanzen, welche der Medikation der Täter entsprachen, da es sich hierbei nur um verschreibungspflichtige Wirkstoffe handelt.

Die in der Methode C enthaltenen Analyten (Felbamat, Vigabatrin und Barbiturate) wurden in keinem der 166 K.-o.-Verdachtsfälle nachgewiesen. Die Barbiturate Phenobarbital, Pentobarbital und Primidon sind heutzutage nicht mehr als Schlafmittel auf dem deutschen Markt vertreten. Phenobarbital und Primidon finden nur noch Einsatz als Antiepileptika sowie Felbamat und Vigabatrin (Freissmuth 2020) und Pentobarbital wird in der Humanmedizin in Deutschland nicht mehr angewendet (Mutschler 2020). Mit der neu entwickelten Methode wurden die von der SOFT empfohlenen Detektionslimits für die Barbiturate nicht erreicht, sodass falsch negative Befunde aufgrund der unzureichenden Empfindlichkeit nicht auszuschließen waren. Mit bisherigen Methoden wurden ebenfalls keine Substanzen der Methode C in den 166 untersuchten K.-o.-Verdachtsfällen nachgewiesen. Eine vergleichbare Prävalenz von Barbituraten in Fällen einer K.-o.-Mittel-Beibringung zeigte sich in veröffentlichten Studien anderer Länder. So wiesen Hindmarch et al. 2001 (USA) nur in 1,2 % der 3303 untersuchten Fälle und Fiorentin & Logan 2019 (USA) in 0,5 % von 1000 Fällen Barbiturate nach. Scott-Ham & Burton 2005 (Vereinigtes Königreich), Hall et al. 2008 (Vereinigtes

Königreich), Hagemann et al. 2013 (Norwegen), Timensma & Davies 2018 (Südafrika) sowie Bertol et al. 2018 (Italien) detektierten dagegen wie in der hier durchgeführten Untersuchung in keinem Fall einen Vertreter dieser Substanzgruppe.

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse könnte die Überlegung angestellt werden, in Zukunft auf die Vermessung der in Methode C enthaltenen Analyten zu verzichten. Doch für eine endgültige Aussage sollten erst noch weitere Fälle untersucht werden.

Gammahydroxybuttersäure (GHB), auch als „Liquid Ecstasy“ bekannt, wird in den Medien neben Flunitrazepam als häufig verwendetes K.-o.-Mittel propagiert. In der hier durchgeführten Untersuchung konnte nur in 1,8 % (n= 3/166) der Fälle GHB nachgewiesen werden. Hindmarch et al. 2001 detektierten in 3 % von 3303 untersuchten Proben GHB. Aufgrund der raschen Metabolisierung von GHB im Körper (Brailsford et al. 2012), weist die Substanz nur ein kurzes Detektionszeitfenster im Urin und Blut auf (Abanades et al. 2007). Eine Probenasservierung, die erst 12 Stunden nach der Tat oder darüber hinaus erfolgte, birgt die Gefahr falsch negativer Befunde. So wurden in der hier durchgeführten Untersuchung nur in 43 von 111 Fällen (38,7 %), in denen ein Zeitintervall zwischen Vorfall und Probenasservierung ermittelt werden konnte, Urinproben innerhalb der ersten 12 Stunden von den Geschädigten abgegeben. Somit konnte aufgrund des überschrittenen Detektionszeitfensters in mehr als 50 % der Fälle eine hohe Dunkelziffer nicht ausgeschlossen werden.

In den Urinproben der Personen F42, F76 und F147 ließ sich mit der neu entwickelten Methode GHB sensitiv nachweisen. Zwar wurde in den vorangegangenen Untersuchungen GHB ebenfalls detektiert, aber in zwei Fällen im ersten Befund nicht berichtet, da der Nachweis nur mit unzureichender Sicherheit erfolgte. Bei Person F147 ließ sich neben GHB auch Lorazepam nachweisen und bei Person F76 fand sich zusätzlich eine Spur Fluoxetin. Die gleichzeitige Verabreichung bzw. Aufnahme zweier sedierender Substanzen erhöht, aufgrund der potenzierenden Wirkung, auch die Gefahr einer Intoxikation mit beispielsweise komatösen Zuständen bis hin zu einer Atemdepression (Fachinfo: GHB, Stand 2015).

In 14 der 60 positiven Fälle wurde auch Alkohol nachgewiesen. Es wurden Blutalkoholkonzentrationen von 0,52 ‰ bis 2,54 ‰ und Urinalkoholkonzentrationen von 0,12 ‰ bis 1,94 ‰ festgestellt. In zwei Fällen wurden durch die Polizei nur die Atemalkoholkonzentrationen bestimmt. Vor allem die zusätzliche Aufnahme anderer zentral wirksamer Substanzen kann zu einer Verstärkung der sedierenden und hypnotischen Wirkungen des Alkohols sowie zu einer stärkeren Beeinträchtigung motorischer Fähigkeiten führen (LeBeau & Mozayani 2001).

In die neu entwickelte Methode wurden die illegalen Betäubungsmittel Cocain, Amphetamin, Ecstasy und Cannabis nicht mit aufgenommen, weil diese nicht der Definition eines klassischen K.-o.-Mittels entsprechen. In den 60 positiven Fällen ließen sich neben Analyten der neu entwickelten Methode auch in 29 Fällen ein (n= 18) oder mehrere (n= 11) illegale Betäubungsmittel detektieren. Siebzehn Personen nahmen Cocain, zwölf Personen Cannabis und 13 Personen Amphetamin oder Ecstasy auf. Inwiefern eine freiwillige Einnahme dieser Substanzen oder eine unbemerkte Beibringung stattfand, ließ sich aus den Fallinformationen nicht entnehmen.

Bei 53 der 60 positiven Fälle ließen sich mit vorangegangenen Untersuchungen und mit der neu entwickelten Methode eine oder mehrere Substanzen detektieren. Es konnten mit der neu entwickelten Methode die Ergebnisse vorangegangener Untersuchungen zwar bestätigt, aber die Aufnahme illegaler Betäubungsmittel nicht erfasst werden. Dagegen ließen sich mit der neuen Methode weitere Analyten, die bisher nicht detektiert wurden, nachweisen. Bei 25 von 53 Personen wurden mit der neuen Methode andere oder weitere Analyten nachgewiesen. Vor allem die Substanzen aus der Gruppe der Antihistaminika wurden mit vorangegangenen Methoden nicht erfasst. Bei neun Personen wurde zusätzlich Cetirizin und bei jeweils einer Person Dimetinden und Chlorphenamin detektiert. Auch Substanzen die bei der durchgeführten Untersuchung nur als Spur oder als schwach positiv bewertet wurden, waren mit bisher angewendeten Methoden nicht identifiziert worden. So konnten bei zehn Personen eine oder mehrere bisher nicht detektierte Analyten mit der neu entwickelten Methode nachgewiesen werden. In anderen Fällen wurden aber auch Analyten als positiv bis stark positiv bewertet, die vorher mittels GC-MS-Analyse nicht detektiert worden waren. So ließen sich beispielsweise bei den Personen F16 und F114 mit der neu entwickelten Methode zusätzlich 7-Aminoclonazepam und bei Person F55 Pregabalin nachweisen. Zusätzlich wurden in den Fällen F16, F114 und F55 auch weitere Substanzen der Methode A sowie ein oder mehrere illegale Betäubungsmittel detektiert. Es stellte sich schließlich die Frage, inwieweit hier eine freiwillige Substanzaufnahme stattfand. Der Verdacht eines kritischen Konsumverhaltens der geschädigten Personen lag nahe.

Bei 28 von 53 Personen wurden die bisher detektierten Substanzen, mit Ausnahme der illegalen Betäubungsmittel und Alkohol, auch mit der neu entwickelten Methode bestätigt.

In sechs von 60 Fällen wurden mit bisher angewendeten Methoden keine Substanzen nachgewiesen und in einem Fall (F129) nur eine niedrige Urinalalkoholkonzentration von 0,12 ‰ festgestellt. Bei der Nachuntersuchung dieser Urinproben ließen sich mit der neu entwickelten Methode eine oder mehrere Substanzen detektieren. So ergab sich bei den Personen F68 und F97 ein Signal für Cetirizin, welches jeweils als stark positiv bewertet wurde. Die mögliche Aufnahme des Antihistaminikums als eigene Medikation der Geschädigten ließ sich aus den Fallinformationen nicht ermitteln.

In der Urinprobe von Person F129 ließ sich eine Spur Amisulprid und in der Probe von Person F141 eine Spur Codein nachweisen. Bei den Personen F70 und F142 wurden jeweils drei Wirkstoffe detektiert, wobei mindestens zwei Vertreter aus der Gruppe der Psychopharmaka (Methode B) identifiziert wurden. Auch in diesen Fällen wurden die nachgewiesenen Analyten nur als Spur bewertet, sodass eine Detektion mit den weniger empfindlicheren, zuvor eingesetzten Methoden nicht realistisch erschien.

In Fällen einer möglichen K.-o.-Mittel-Beibringung ist ein sensitiver Nachweis potentieller K.-o.-Substanzen von großer Bedeutung. So lassen sich auch in Fällen mit einem großen Zeitintervall zwischen Vorfall und Probenasservierung Analyten mit der neu entwickelten Methode nachweisen. Die Analyse von Urinproben mittels GC-MS steht dem gegenüber im Nachteil.

In 106 der 166 untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle ließen sich keine Substanzen mit der neu entwickelten Methode nachweisen. Dabei wurden in knapp der Hälfte dieser Fälle ($n=50/106$) auch mit bisherigen Methoden keine Substanzen oder Alkohol nachgewiesen. Informationen zum Tatzeitpunkt sowie dem Zeitpunkt der Probenasservierung standen bei 36 dieser K.-o.-Verdachtsfälle zur Verfügung. 72 % der Personen ($n=26/36$) gaben dabei innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Vorfall Urinproben zur Untersuchung auf K.-o.-Substanzen ab. Weiterhin erklärten nur elf von 50 Personen, Alkohol vor bzw. im Zusammenhang mit dem Vorfall getrunken zu haben. In der Untersuchung von Hagemann et al. 2013 berichteten dagegen 86 % der Personen Alkohol aufgenommen zu haben, wobei in weniger als der Hälfte der Fälle Ethanol nachgewiesen werden konnte. Im Untersuchungskollektiv von Hurley et al. 2006 gaben 77 % der Personen eine Alkoholaufnahme an, aber nur in 37 % ließ sich eine Blutalkoholkonzentration feststellen. Ein negatives Untersuchungsergebnis schließt dennoch eine Aufnahme von Alkohol sowie eine mögliche Beibringung anderer K.-o.-Substanzen nicht aus. Ethanol unterliegt einer Eliminationsrate von 0,1 bis 0,25 g/L/h, sodass sich aus der Untersuchung von Blut- oder Urinproben durch eine zeitlich verzögerte Asservierung nach dem Vorfall falsch negative Ergebnisse ergeben können (Costa et al. 2020). Hagemann et al. 2013 ermittelten mit 85 % eine gute Übereinstimmung von berichtetem Alkoholkonsum und positiven Blutalkoholkonzentrationen bei einer Probenasservierung in den ersten zwölf Stunden nach dem Vorfall. Auch Substanzen wie zum Beispiel GHB lassen sich im Blut nur in einem Zeitfenster von acht Stunden und im Urin von zwölf Stunden nach Aufnahme nachweisen (Abanades et al. 2007). Doch aufgrund einer häufig verzögerten Beweissicherung in Form von Blut- oder Urinproben besteht die Möglichkeit, dass Substanzen bereits metabolisiert und ausgeschieden wurden oder aufgrund geringer Dosierungen die Substanzen nur noch unterhalb der Nachweisgrenzen der angewendeten Analysenmethoden im Urin präsent sind, wie auch Grela et al. 2018 in ihrer Veröffentlichung begründeten.

Mit den durchgeführten Untersuchungen konnten bei 23 der 106 Personen über eine Alkoholisierung hinaus keine weiteren Substanzen sowohl mit der neu entwickelten Methode als auch mit den bisherigen Methoden nachgewiesen werden. Es ließen sich Blutalkoholkonzentrationen von 0,53 ‰ bis 1,50 ‰ (n= 13) und Urinalkoholkonzentrationen von 0,12 ‰ bis 2,54 ‰ (n= 10) nachweisen. Insgesamt gaben nur sieben der 23 Personen eine vorangegangene Alkoholaufnahme an. In zehn Fällen erfolgte eine Probengewinnung innerhalb der ersten zwölf Stunden nach dem Vorfall, wobei in neun dieser Fälle Alkoholmessungen im Blut durchgeführt wurden. War die Zeitspanne zwischen Probenasservierung und Tatzeit größer als zwölf Stunden oder konnte diese aufgrund fehlender Informationen nicht ermittelt werden (n= 13), wurden vorrangig Urinalkoholkonzentrationen (n= 9) bestimmt. Bei den festgestellten, teilweise hohen Alkoholkonzentrationen liegt die Vermutung nahe, dass durch die alleinige Aufnahme größerer Mengen Alkohol Symptome wie Benommenheit, Sedierung, Verlust motorischer Fähigkeiten bis hin zu anterograder Amnesie (Erinnerungsverlust) hervorgerufen wurden (Costa et al. 2020). Die Verträglichkeit von Alkohol ist unter anderem abhängig von der körperlichen Konstitution, der Gewöhnung, aber auch von der tagesaktuellen Verfassung wie Müdigkeit und dem Ernährungszustand einer Person (LeBeau & Mozayani 2001). Auch wenn die Geschädigten glaubten, die von ihnen verträgliche Alkoholmenge zu kennen, unterschätzten sie möglicherweise die hervorgerufenen Wirkungen des Alkohols und vermuteten eher eine K.-o.-Mittel-Beibringung durch Dritte (Hagemann et al. 2013).

In 31 Fällen, bei denen sich mit der neu entwickelten Methode keine Substanzen nachweisen ließen, verlief die vorangegangene Untersuchung auf illegale Betäubungsmittel positiv. Am häufigsten wurden Cocain (n= 18) und Cannabis (n= 15) aufgenommen, aber auch Ecstasy (n= 2) und Amphetamin (n= 6), wobei Kombinationen aus mindestens zwei illegalen Betäubungsmitteln oder mit Alkohol in jeweils sechs Fällen nachgewiesen werden konnten.

Die Sympathikus erregenden Substanzen Cocain, Amphetamin und Ecstasy sind unter anderem in der Partyszene weit verbreitet. Obwohl diese Substanzen nicht der klassischen Definition von K.-o.-Mitteln entsprechen, werden sie ebenfalls von Tätern missbräuchlich angewendet und potentiellen Opfern unwissentlich im Getränk beigebracht (Grela et al. 2018). Hierbei steht vor allem die berauschende Wirkung der Substanzen im Vordergrund, um leichter eine gewisse Enthemmung der Opfer erreichen zu können und diese beispielsweise zu sexuellen Handlungen zu verführen (Prego-Meleiro et al. 2020). Bei Cannabis handelt es sich ebenfalls um eine untypische Substanz, welche als K.-o.-Mittel verwendet wird. Vor allem eine unbemerkte Beibringung erscheint hier eher schwierig, da die Aufnahme von Cannabiszubereitungen wie Haschisch oder Marihuana meist inhalativ durch das Rauchen von Joints oder durch die orale Aufnahme in Form von Gebäck erfolgt (Grela et al. 2018). So beschrieb Kintz 2014, dass eher von einer freiwilligen Cannabisaufnahme durch die Geschädigten auszugehen ist und der

herbeigeführte Zustand der Beeinträchtigung von motorischen Fähigkeiten, der Aufmerksamkeit oder auch dem Gedächtnis von den Tätern ausgenutzt werden. Ein Nachweis über die Aufnahme von Cannabis erfolgt im Urin durch die Detektion des unwirksamen Metaboliten THC-Carbonsäure. Aufgrund der starken Verteilung von Cannabis unter anderem im Fettgewebe ist ein Nachweis je nach Konsumverhalten zwischen mehreren Tagen und Monaten im Urin möglich (Kintz 2014, LeBeau & Mozayani 2001). So stellt sich bei der Interpretation positiver Cannabisbefunde in Fällen einer K.-o.-Mittel-Beibringung die Frage, ob eine mögliche freiwillige Aufnahme durch die Geschädigten in den Tagen vor dem Vorfall in Betracht kommt.

Inwieweit eine freiwillige Aufnahme von Betäubungsmitteln durch die Geschädigten stattfand, ließ sich aus den vorliegenden Informationen der bearbeiteten Fälle nicht ermitteln. Wie auch schon Hagemann et al. 2013 in ihrer Veröffentlichung anmerkten, sind auch mögliche Schutzbehauptungen der potentiell Geschädigten aus Angst vor Konsequenzen nicht auszuschließen.

In einem Fall, in dem mit der neu entwickelten Methode keine Substanzen nachgewiesen werden konnten, wurde das Psychopharmakon Duloxetin mit vorangegangenen Untersuchungen detektiert. Bei der Auswahl der potentiellen K.-o.-Mittel wurde Duloxetin in die Kategorie 0 (kein Nachweis der Substanz notwendig) eingeordnet, da laut Baselt 2017 die Muttersubstanz im Urin für eine Detektion in nicht ausreichender Menge ausgeschieden wird und bei der Biotransformation gebildete Metabolite zum Zeitpunkt der Erarbeitung der Substanzliste nicht erwerbbar waren. Doch bei der Untersuchung der Urinprobe von Person F58 mittels GC-MS ließ sich Duloxetin nachweisen, sodass die Kategorisierung der Substanz neu bewertet und nachträglich in die neu entwickelte Methode integriert werden sollte.

Vergleich der neu entwickelten Methode mit bisher angewendete Methoden

Die Urinproben der im Institut für Rechtsmedizin eingegangenen K.-o.-Verdachtsfälle wurden vor dieser Arbeit hauptsächlich mittels GC-MS und Immunoassays analysiert. Positive Befunde wurden mit beweissichernden Analysemethoden wie zum Beispiel LC-MS/MS quantitativ bestätigt.

Eine Analyse der Urinproben mittels immunchemischer Tests erfolgte vor allem auf Benzodiazepine, Amphetamine, Barbiturate, Opiate, Cocain, Cannabis, Methadon sowie Trizyklische Antidepressiva. Diese Tests haben den Nachteil, potentielle K.-o.-Substanzen mit einer, der Fragestellung entsprechenden, unzureichenden Sensitivität zu detektieren, was eine falsch negative Interpretation von K.-o.-Verdachtsfällen zur Folge haben kann. Des Weiteren ist bekannt, dass vor allem die verschiedenen Vertreter der Benzodiazepine unterschiedliche Kreuzreaktivitäten im Immunoassay aufweisen, da es sich hierbei um einen Gruppentest der Benzodiazepine handelt (Parkin & Brailsford 2009).

Für die Analyse der Urinproben mittels GC-MS wurden 3 mL Urin nach vorangegangener Glucuronidspaltung mit einem Gemisch aus Ethylacetat und Chlorbutan (20:80) flüssig-flüssig extrahiert und anschließend mit Essigsäureanhydrid derivatisiert. Der Extrakt wurde in das GC-MS System injiziert und einer so genannten „General Unknown“-Analyse unterzogen (Hausinterne Verfahrensanweisung: SOP 2.42.17).

Diese Screening-Methode hatte den Vorteil, dass eine Auswertung der aufgezeichneten Massenspektren über Datenbanken erfolgte. Dahingehend ließen sich theoretisch weitaus mehr Substanzen mittels GC-MS detektieren, als mit der neu entwickelten Methode, welche auf die Target-Analyse von 143 potentiellen K.-o.-Substanzen begrenzt wurde. Ein großer Nachteil der Analyse mit GC-MS gegenüber LS-MS/MS ist die geringere Empfindlichkeit der Geräte. So zeigten Deveaux et al. 2008 in ihrer Untersuchung, dass sich, im Vergleich zu Immunoassay und GC-MS-Analyse, sechs ausgewählte Substanzen (Benzodiazepine) im Urin mittels LC-MS/MS in den meisten Fällen doppelt so lange detektieren ließen. Im Hinblick auf häufig große Zeitintervalle von zwölf Stunden bis hin zu mehreren Tagen zwischen Tatzeit und Probenasservierung sind lange Nachweisfenster von großer Bedeutung. Die von der SOFT empfohlenen niedrigen Detektionslimits wurden zum Beispiel von Adamowicz & Kala 2010 mit ihrer GC-MS-Methode zur Untersuchung von Urinproben auf 128 potentielle K.-o.-Mittel für viele Analyten nicht erreicht, was gleichzeitig mit kürzeren Zeitfenstern der Nachweisbarkeit von K.-o.-Substanzen einhergeht.

Die in dieser Arbeit durchgeführte Untersuchung von 166 K.-o.-Verdachtsfällen konnte zeigen, dass sich in allen Fällen die zuvor detektierten Analyten, die illegalen Betäubungsmittel (Cocain, Amphetamin, Ecstasy und Cannabis) ausgenommen, mit der neuen Methode ebenfalls bestätigen ließen. Darüber hinaus war es möglich, Analyten wie zum Beispiel Cetirizin und Morphin in sehr geringen Konzentrationen mit der neuen LC-MS/MS-Methode nachzuweisen. Aus vorangegangener Analyse mittels GC-MS ließ sich dagegen Cetirizin nur in einem Fall mit ausreichender Sicherheit detektieren. Auch für die Detektion von Pregabalin scheint die bisherige GC-MS-Methode nicht gut geeignet zu sein, insbesondere im Hinblick auf die erreichte niedrige Nachweisgrenze von 14,8 ng/mL mittels LC-MS/MS.

Vor der Entwicklung der neuen Methode erfolgte die Untersuchung von Urinproben auf Benzodiazepine und Opiode in Fällen einer möglichen K.-o.-Mittel-Beibringung ebenfalls mittels LC-MS/MS. Doch aufgrund der Probenvorbereitung in Form einer einfachen Verdünnung des Urins war es zwar möglich Benzodiazepine und Opiode zu erfassen, aber nicht mit ausreichender Sicherheit, sodass diese im ersten Befund nicht angegeben wurden.

Für die gezielte Analyse auf GHB wurden bisher 100 µL Urin, dotiert mit deuteriertem Standard, durch Zugabe von Ethylacetat flüssig-flüssig extrahiert und nach anschließender Derivatisierung mit BSTFA + 1 % TMCS mittels GC-MS analysiert (Andresen-Streichert et al. 2015). Diese Methode erfüllte das von der SOFT empfohlene Detektionslimit von 10000 ng/mL. Aufgrund des deutlich geringeren Einsatzes von Probenmaterial gegenüber der neu entwickelten Methode (1 mL) und des vergleichbaren zeitlichen, aber erheblich kostengünstigeren Aufwands bei der Probenvorbereitung, wurde die entwickelte Methode D aus wirtschaftlichen Gründen, über die Untersuchung der 166 K.-o.-Verdachtsfälle im Rahmen dieser Studie hinaus, nicht in die Laborroutine übernommen.

8.7 Vergleich der Ergebnisse der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle mit bisher veröffentlichten Studien

In dieser Arbeit wurden insgesamt 166 K.-o.-Verdachtsfälle, die im Institut für Rechtsmedizin Hamburg von Januar 2017 bis April 2020 zur Untersuchung beauftragt wurden, mit der neu entwickelten Methode nachuntersucht und in Zusammenschau mit den Ergebnissen aus vorangegangenen Untersuchungen ausgewertet (Tabelle 16). Insgesamt ließen sich in 30,1 % aller Fälle (n= 50) keine Substanzen oder Alkohol nachweisen. Dagegen wurden in 69,9 % der Fälle (n= 116) eine oder mehrere Substanzen und/oder Alkohol detektiert. Alkohol konnte in 26 % aller Fälle (n= 43) nachgewiesen werden, wobei Blutalkoholkonzentrationen in einem Bereich von 0,52 ‰ bis 2,54 ‰ bestimmt wurden. In 60 Fällen (36,1 %) wurden ein oder mehrere illegale Betäubungsmittel detektiert. Am häufigsten wurden Cocain (n= 35) und Cannabis (n= 27) aufgenommen, Amphetamin nur in zehn Fällen und Ecstasy in elf Fällen. Weiterhin wurden in 8,4 % aller Fälle (n= 14) Benzodiazepine nachgewiesen. In der hier durchgeführten Untersuchung ließen sich am häufigsten Nordazepam, Oxazepam und Temazepam detektieren, aber auch Lorazepam und Clonazepam wurden in jeweils vier Fällen aufgenommen. Des Weiteren konnte in 13 Fällen Morphin und in zwölf Fällen Cetirizin nachgewiesen werden. Aus der Gruppe der Psychopharmaka wurden am häufigsten Citalopram (n= 5) sowie Fluoxetin und Pipamperon in jeweils vier Fällen detektiert. GHB konnte dagegen nur in 1,8 % aller Fälle (n= 3) sicher nachgewiesen werden. Bei der Untersuchung wurden in keinem Fall Barbiturate gefunden.

In der Studie von Hindmarch et al. 2001 wurden insgesamt 3003 Urinproben auf potentielle K.-o.-Substanzen untersucht. Dabei verliefen die Untersuchungen in 38,7 % aller Fälle negativ und in 61,3 % konnten ein oder mehrere Substanzen und/oder Alkohol nachgewiesen werden. Die Prävalenz von Alkohol lag in dieser Studie mit 41,1 % deutlich höher im Vergleich zu der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchung. Auch Hindmarch et al. 2001 detektierten häufig illegale Betäubungsmittel, wobei Cannabis mit 18,6 % (n= 613), gefolgt von Cocain mit 8,4 % (n= 279) am häufigsten vertreten waren. Der Nachweis von Benzodiazepinen erfolgte in 9,5 % aller Fälle und für GHB wurde eine Prävalenz von 3,0 % ermittelt.

In einer weiteren, der in den Vereinigten Staaten durchgeführten Studie von Fiorentin & Logan 2019 wurden insgesamt 1000 K.-o.-Verdachtsfälle analysiert. Hierbei verliefen die Untersuchungen nur in 21,6 % der Fälle negativ. Die Prävalenz von Alkohol lag mit 30,9 % vergleichbar mit der hier durchgeführten Untersuchung, aber deutlich niedriger, als die von Hindmach et al. 2001 ermittelten 45 %. Unter den illegalen Betäubungsmitteln war Cannabis mit 28,8 % am häufigsten vertreten. Eine hohe Prävalenz wurde auch für den Nachweis von Benzodiazepinen mit 20,9 % ermittelt. Dabei wurden meist Clonazepam (n= 76) und Alprazolam (n= 72) detektiert, Diazepam bzw. Nordazepam dagegen nur in 37 Fällen. Aus der Gruppe der Psychopharmaka ließen sich Citalopram (n= 50) und Fluoxetin (n= 39) am häufigsten nachweisen. Fiorentin & Logan 2019 ermittelten mit 5,9 % eine etwas höhere Prävalenz für GHB, im Vergleich zu der hier durchgeführten Untersuchung.

Hagemann et al. 2013 führten in Norwegen eine Untersuchung von 264 K.-o.-Verdachtsfällen durch. In 59 % der Fälle konnten Substanzen und/oder Alkohol nachgewiesen werden. Es wurde eine Prävalenz für Alkohol von 45 % ermittelt, mit Blutalkoholkonzentrationen von 0,20 ‰ bis 2,80 ‰. Benzodiazepine wurden in 11,7 % der Fälle detektiert, wobei Oxazepam in 18 Fällen und in jeweils acht Fällen Clonazepam und Diazepam nachgewiesen wurden. GHB wurde in keinem Fall detektiert. Die Studie von Hagemann et al. 2013 wurde insgesamt als sehr limitiert betrachtet, da hier keine Untersuchung der Proben auf Psychopharmaka oder Antihistaminika erfolgte.

Bertol et al. 2018 untersuchten in Italien 256 Fälle mit Verdacht einer K.-o.-Mittel-Beibringung. Insgesamt wurden hier nur in 37,1 % der Fälle Substanzen und/oder Alkohol detektiert. Alkohol konnte in 22,3 % der Fälle nachgewiesen werden, mit Blutalkoholkonzentrationen von 0,12 ‰ bis 3,43 ‰. Cannabis (n= 19) wurde auch in dieser Studie am häufigsten aus der Gruppe der illegalen Betäubungsmittel gefunden, gefolgt von Cocain in 15 Fällen. Vergleichbar mit den Ergebnissen, der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchung, wiesen Bertol et al. 2018 Diazepam, Nordazepam und Oxazepam am häufigsten aus der Gruppe der Benzodiazepine nach und insgesamt in fünf Prozent aller Fälle einen Vertreter dieser Gruppe.

Von Timensma & Davies 2018 wurde erstmals eine Studie aus Südafrika zur Untersuchung von K.-o.-Fällen veröffentlicht. In 72 von 106 analysierten Proben ließen sich Substanzen und/oder Alkohol nachweisen (67,9 %). Bei der Durchsicht dieser Studie fiel ins Augenmerk, dass vor allem Metamphetamin (n= 30) aus der Gruppe der illegalen Betäubungsmittel detektiert wurde. Weiterhin konnten in 13 Fällen Doxylamin oder Diphenhydramin und nur in vier Fällen Benzodiazepine nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der Untersuchung eines Siebenjahreszeitraums (1999 bis 2005) im Vereinigten Königreich wurde von Hall et al. 2008 veröffentlicht. Insgesamt wurden 291 Fälle analysiert und in 68,7 % potentielle K.-o.-Substanzen und/oder Alkohol nachgewiesen. Für Alkohol wurde auch in dieser Studie eine relativ hohe Prävalenz mit 56 % ermittelt. Unter den illegalen Betäubungsmitteln war Cannabis mit 23 Fällen am häufigsten vertreten. Benzodiazepine konnten bei 33 Personen (11,3 %) und aus der Gruppe der Psychopharmaka Venlafaxin und Citalopram in jeweils fünf Fällen nachgewiesen werden. Des Weiteren wurden Opiate (Codein, Morphin) in 7,9 % (n= 23) der untersuchten 291 Fälle detektiert.

In einer weiteren Veröffentlichung aus dem Vereinigten Königreich von Scott-Ham & Burton 2005 umfasste das Untersuchungskollektiv insgesamt 1014 Personen. Vergleichbar mit der Studie von Hall et al. 2008 verliefen die Untersuchung in 65 % der Fälle positiv. Dabei ließ sich Alkohol in 46,4 %, Cannabis in 25,6 % und Cocain in 10,8 % aller Fälle nachweisen. Bei 84 Personen konnten Benzodiazepine detektiert werden, davon in 44 Fällen Diazepam und wie auch Hall et al. 2008, wiesen Scott-Ham & Burton 2005 in ihrer Studie Opiate (Codein Morphin) in 5,3 % aller Fälle nach.

Im Vergleich zu den bisher aufgeführten Studien fiel bei der Durchsicht zweier französischer Studien zur Untersuchung von K.-o.-Verdachtsfällen besonders die Gruppe der Benzodiazepine ins Augenmerk. Neben einer hohen Prävalenz von 19 % bei Chèze et al. 2005, ermittelten Djeddar et al. 2009 sogar eine Prävalenz von 82 % (n= 129/158) in ihrem Untersuchungskollektiv. In beiden Studien wurden am häufigsten Clonazepam und Bromazepam nachgewiesen und Djeddar et al. 2009 detektierten auch in sieben Prozent ihrer untersuchten Fälle Flunitrazepam. Des Weiteren fanden Chèze et al. 2005 in 3,9 % der Fälle Zolpidem und Djeddar et al. 2009 sogar in 12,6 % der untersuchten 158 Fälle. Im Vergleich dazu detektierten Fiorentin & Logan 2019 nur bei sechs von 1000 Personen (0,6 %) Zolpidem.

Die aktuellste Veröffentlichung zur Untersuchung von K.-o.-Verdachtsfällen kommt aus Neuseeland von Poulsen et al. 2020, wobei es sich hierbei auch um die erste neuseeländische Studie zu diesem Thema handelte. Insgesamt wurden 162 Proben von Personen nach einer möglichen K.-o.-Mittel-Beibringung untersucht. Bei 76 Personen (46,9 %) wurde Alkohol detektiert und in 79 Fällen illegale Betäubungsmittel, wobei Cannabis mit 46 Fällen am häufigsten vertreten war. Weiterhin konnte bei 30 Personen die Aufnahme von Metamphetamin, dagegen in keinem Fall Cocain nachgewiesen werden. Bisher zeigte nur die südafrikanische Studie von Timensma & Davies 2019 eine vergleichbar hohe Prävalenz für den Nachweis von Metamphetamin, wohingegen diese Substanz im Zusammenhang mit K.-o.-Verdachtsfällen in anderen Ländern keine Rolle zu spielen scheint. Weiterhin wiesen Poulsen et al. 2020 in 21,6 % der 162 untersuchten Fälle Benzodiazepine (am häufigsten Diazepam und Lorazepam) und in 11,1 % Opiate nach. Psychopharmaka ließen sich in 42,6 % aller Fälle detektieren, dabei am häufigsten vertreten waren Citalopram in 15 Fällen, Fluoxetin in 14 Fällen und Quetiapin in neun Fällen.

Insgesamt zeigte der Vergleich der in dieser Arbeit ermittelten Untersuchungsergebnisse mit Ergebnissen anderer bisher veröffentlichten Studien ein ähnliches Bild (Tabelle 16). Stets mit einer hohen Prävalenz vertreten war Alkohol, gefolgt von Vertretern illegaler Betäubungsmittel. Im Hinblick auf sedierende Medikamente ließen sich, mit Ausnahme der südafrikanischen Studie von Timensma & Davies 2019, in allen Veröffentlichungen am häufigsten Vertreter der Benzodiazepine nachweisen. Hierbei zeigte sich aber ein Unterschied in der Prävalenz der einzelnen Substanzen, was sich vermutlich aus den erteilten Zulassungen sowie den Häufigkeiten der Verordnungen in den einzelnen Ländern ergibt. Des Weiteren zeigte der Vergleich aller Studien, dass in keinem Land GHB besonders häufig detektiert wurde. Eine hohe Dunkelziffer aufgrund falsch negativer Ergebnisse durch sehr kurze Nachweisbarkeitszeiten von GHB aber auch anderer Substanzen, sowie verzögerter Probenasservierungen kann nicht ausgeschlossen werden und verlangt stets eine kritische Bewertung von Untersuchungsergebnissen. Bei der Durchsicht aller hier aufgeführten Studien wurden gleichzeitig große Schwierigkeiten in ihrer Vergleichbarkeit festgestellt. So erfolgten Untersuchungen von Proben mit sehr verschiedenen Analysemethoden wie Immunchemie, Gaschromatographie bis hin zu hochauflösenden LC-MS/MS-Verfahren, was gleichzeitig zu unterschiedlichen Detektionslimits der untersuchten Substanzen führt. Des Weiteren wurden die Fälle einem sehr heterogenen Untersuchungsspektrum unterzogen. Vor allem die Untersuchung der Proben auf Psychopharmaka wurde in vielen Ländern nicht oder nur auf sehr ausgewählte Substanzen durchgeführt. Eine gute Vergleichbarkeit von Untersuchungsergebnissen in Fällen einer K.-o.-Mittel-Beibringung wird auch in Zukunft eine Herausforderung darstellen, da nicht in jedem Land und Untersuchungslabor entsprechende Gerätschaften bzw. Methoden zur Verfügung stehen.

Tabelle 16: Vergleich der Ergebnisse der untersuchten K.-o.-Verdachtsfälle mit bisher veröffentlichten Studien

	Daten der eigenen Studie	Hindmarch et al. 2001	Forentin & Logan 2019	Hagemann et al. 2013	Bertol et al. 2018	Timensma & Davies 2018	Hall et al. 2008	Scott-Ham & Burton 2005	Poulsen et al. 2020
Fallzahl	166	3303	1000	264	256	106	291	1014	162
Untersuchungszeitraum (in Monaten)	40	44	12	90	102	33	84	32	36
Land	Deutschland	USA	USA	Norwegen	Italien	Südafrika	UK	UK	Neuseeland
Kein Substanznachweis (inkl. Alkohol)	30,1 %	38,7 %	21,6 %	41 %	62,9 %	32,1 %	31,3 %	35 %	32 %
Substanznachweis (inkl. Alkohol)	69,9 %	61,3 %	78,4 %	59 %	37,1 %	67,9 %	68,7 %	65 %	68 %
Nachweis von Alkohol	26 %	41,1 %	30,9 %	45 %	22,3 %	25,9 %*	56 %	46,4 %	46,9 %
Illegale BtM									
<i>THC</i>	16 %	18,6 %	28,8 %	4,9 %	7,4 %	3,8 %	8,2 %	25,6 %	28,4 %
<i>Cocain</i>	21 %	8,4 %	10,4 %	(-)	5,9 %	9,4 %	1,0 %	10,8 %	(-)
<i>Amphetamin</i>	6,0 %	6,7 %	} 17,5 %	3,4 %	0,8 %	(-)	0,3 %	2,3 %	(-)
<i>Ecstasy</i>	6,6 %	(-)		(-)	(-)	(-)	2,7 %	4,6 %	1,9 %
<i>Metamphetamin</i>	(-)	(-)		2,7 %	(-)	28 %	(-)	(-)	18,5 %
Medikamente									
<i>Benzodiazepine</i>	8,4 %	9,5 %	20,9 %	11,7 %	5,0 %	3,8 %	11,3 %	8,3 %	21,6 %
<i>Opiate</i>	7,8 %	2,6 %	4,4 %	4,1 %	0,4 %	3,8 %	7,9 %	5,3 %	11,1 %
<i>Psychopharmaka</i>	14,1 %	/	k.A.	/	/	k.A.	4,5 %	8,0 %	42,6 %
GHB	1,8 %	3,0 %	5,9 %	(-)	0,4 %	k.A.	(-)	0,2 %	k.A.

*die Untersuchung auf Alkohol erfolgte insgesamt nur in 59 Fällen (Bestimmung der AAK); (-) = kein Nachweis; / = in dieser Studie wurde keine Untersuchung der Proben auf Psychopharmaka durchgeführt; k.A. = keine Angabe, in wie vielen Fällen Psychopharmaka oder GHB nachgewiesen wurden bzw. ob eine Untersuchung auf diese Substanzen stattfand

8.8 Fazit

Unter dem Begriff K.-o.-Mittel versteht sich nicht nur, wie häufig in den Medien berichtet, die unbemerkte Verabreichung einer bestimmten Substanz. Eine Vielzahl von verschreibungspflichtigen aber auch nicht verschreibungspflichtigen Medikamenten, allein oder in Kombination mit Alkohol, hat das Potential einer K.-o.-Mittel-Wirkung. Auch die alleinige Aufnahme großer Mengen Alkohols kann zu einem Bewusstseinsverlust und damit einhergehenden mangelnden Erinnerungsvermögen führen. Die herbeigeführte Wehrlosigkeit bzw. Handlungsunfähigkeit der Opfer kann schließlich durch Dritte in Form von Sexual- oder Raubdelikten ausgenutzt werden.

Ziel dieser Arbeit war es eine sensitive, hochleistungsfähige und effiziente Analytik zum Nachweis potentieller K.-o.-Substanzen im Urin zu entwickeln. Hierfür wurde die vom DFC-Komitee der SOFT publizierte Empfehlung zum Nachweis potentieller K.-o.-Substanzen sowie zu den zu erreichenden Nachweisgrenzen als Maßstab angesehen.

Diese Methode wurde angewendet zur retrospektiven Untersuchung der im Institut für Rechtsmedizin Hamburg eingegangenen Urinproben von K.-o.-Verdachtsfällen. Hierdurch konnte gezeigt werden, dass sich alle Substanzen, die in vorangegangenen Untersuchungen nachgewiesen wurden, mit der neu entwickelten Analysenmethode ebenfalls bestätigen ließen. Darüber hinaus konnten weitere Substanzen detektiert werden, die mit bisherigen Methoden nicht bzw. nicht mit ausreichender Beweiskraft gefunden wurden.

Die illegalen Betäubungsmittel Cocain, Amphetamin, Metamphetamin und Ecstasy zeichnen sich vor allem durch ihre Sympathikus-anregenden und Cannabis durch dämpfende Eigenschaften aus. Auf eine Aufnahme dieser Substanzen in die neue Analysenmethode wurde bewusst verzichtet, da diese nicht der klassischen K.o.-Mittel-Definition entsprechen. Doch ließ sich gerade für diese Substanzen eine hohe Prävalenz bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse der 166 K.-o.-Fälle ermitteln. So wurde entschieden, Urinproben von K.-o.-Verdachtsfällen neben der Anwendung der neu entwickelten Methode ebenfalls weiterhin mittels immunchemischer Methoden auf illegale Betäubungsmittel zu testen.

Außerdem ließ sich nach der Aufnahme von Duloxetin - entgegen der Literaturdaten (Baselt 2017) - nicht nur die Metabolite Monohydroxy- und Dihydroxy-Duloxetin, sondern auch die Muttersubstanz in zwei K.-o.-Verdachtsfällen (F9 und F58) mittels GC-MS Analyse im Urin nachweisen. Duloxetin wurde in dieser Arbeit aufgrund mangelnder Verfügbarkeit von Referenzsubstanzen für die Metabolite in die Kategorie 0 eingeteilt und somit nicht in die Methode aufgenommen. Die neu entwickelte Analysenmethode sollte um diesen Analyten nachträglich erweitert werden.

Aus der Untersuchung der K.-o.-Verdachtsfälle ergab sich für fünf Wirkstoffe der Kategorie 3 stets ein gemeinsamer Nachweis von Muttersubstanz und Metabolit. So zeigte sich in den Fällen mit einem positiven Nachweis von Venlafaxin, Olanzapin, Citalopram, Dextromethorphan und Ketamin immer ein höheres Signal für die detektierten Metabolite als für die Muttersubstanzen. Auch Parkin et al. 2008 ermittelten bei der Untersuchung von Ketamin und seiner Metabolite Norketamin und Dehydronorketamin ein besonders langes Nachweisfenster für Dehydronorketamin im Urin. Dementsprechend könnte über eine Anpassung der in dieser Arbeit entwickelten Methode nachgedacht werden, indem nur noch auf die Metabolite der fünf Wirkstoffe getestet wird. Allerdings muss beachtet werden, dass die Fallzahlen für die erhobene These bzw. eine genaue Beurteilung bisher sehr gering sind.

Die von der SOFT verfasste Empfehlung zur Untersuchung von K.-o.-Substanzen sowie der zu erreichenden Detektionslimits stellt insgesamt eine große Herausforderung an die anzuwendenden Analysemethoden dar. Aufgrund der verschiedenen physikochemischen Eigenschaften der Substanzen und der hohen geforderten Empfindlichkeiten war es nicht möglich, alle Analyten in einer Methode zu vereinen. Die in dieser Arbeit entwickelten Methoden (A, B, C und D) zur Untersuchung von Urinproben auf insgesamt 143 potentielle K.-o.-Substanzen (Muttersubstanzen und/oder ihre Metabolite) zeichnen sich dennoch durch eine praktikable Probenvorbereitung sowie eine sehr sensitive Detektion der Analyten aus. Für die meisten der Analyten ließen sich der Empfehlung entsprechende Detektionslimits oder niedriger erreichen, sodass sich auch bei einer Probenasservierung zwei bis drei Tage nach dem Vorfall die Chance ergibt, geringste Spuren möglicherweise verabreichter Wirkstoffe nachweisen zu können.

Literaturverzeichnis

Abanades, S., Farré, M., Segura, M., Pichini, S., Pastor, A., Pacifici, R., Pellegrini, M., de la Torre, R. Disposition of gamma-hydroxybutyric acid on conventional and nonconventional biologic fluids after single drug administration: issues in methodology and drug monitoring. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2007, Bde. 29: 64-70.

AbZ-Pharma GmbH. Fachinformation: Amantadin AbZ 100 mg Filmtabletten. Stand: Januar 2019.

Adamowicz, P., Kala, M. Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry. *Forensic Science International*. 2010, Bde. 198: 39-45.

Agilent Technologies. Agilent Bond Elut, Specialty, Disk and Bulk SPE - Selection Guide. USA : 2011.

Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F.B., Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. München : Elsevier GmbH, Der Urban & Fischer Verlag, 2017. 12. Auflage.

Andresen, H., Schmoldt, A. Does the consumption of poppy seeds lead to positive opiate-test results in urine, blood and hair? *Blutalkohol*. 2004, Bde. 41: 191-202.

Andresen-Streichert, H., Jensen, P., Kietzerow, J., Schrot, M., Wilke, N., Vettorazzi, E., Müller, A., Iwersen-Bergmann, S. Endogenous gamma-hydroxybutyric acid (GHB) concentrations in post-mortem specimens and further recommendation for interpretative cut-offs. *International Journal of Legal Medicine*. 2015, Bde. 129: 57-68.

Anilanmert, B., Cavus, F., Narin, I., Cengiz, S., Sertler, S., Özdemir, A.A., Acikkol, M. Simultaneous analysis methode for GHB, ketamine, norketamine, phenobarbital, thiopental, zolpidem, zopiclone and phenytoin in urine, using C18 poroshell column. *Journal of Chromatography B*. 2016, Bde. 1022: 230-241.

B. Braun Melsungen AG. Fachinformation: Atropinsulfat B. Braun 0,5 mg/ml. Stand: April 2003.

B. Braun Melsungen AG. Fachinformation: Etomidat-®Lipuro 2 mg/ml Emulsion zur Injektion. Stand: September 2017.

Baselt, R.C. *Disposition of Toxic Drugs & Chemicals in Man -Eleventh Edition-*. s.l. : Biomedical Publications, 2017.

- Bechtel, L.K., Holstege, C.P.** Criminal Poisoning: Drug-Facilitated Sexual Assault. *Emergency Medicine Clinics of North America*. 2007, Bde. 25: 499-525.
- Bertol, E., Grazia Di Milia, M., Fioravanti, A., Mari, F., Palumbo, D., Pascali, J.P., Vaiano, F.** Proactive drugs in DFSA cases: Toxicological findings in an eight-year study. *Forensic Science International*. 2018, Bde. 291: 207-215.
- Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG.** Fachinformation: Silomat[®] gegen Reizhusten, Pentoxyverin Saft. Stand: Mai 2015.
- Brailsford, A.D., Cowan, D.A., Kieman, A.T.** Pharmacokinetic properties of γ -Hydroxybutyrate (GHB) in whole blood, serum and urine. *Journal of Analytical Toxicology*. 2012, Bde. 36: 88-95.
- Brodacz, W.** LABO: Matrixeffekte in der LC/MS. *Strategien zu ihrer Beherrschung - Teil 1: Reduktion*. [Online] 2012. [Zitat vom: 17. 02 2021.] <https://www.labo.de/spektroskopie/matrixeffekte-in-der-lc-ms.htm>.
- Budzikiewicz, H., Schäfer, M.** *Massenspektrometrie - Eine Einführung*. Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012. 6. Auflage.
- Chèze, M., Duffort, G., Deveaux, M., Pépin, G.** Hair analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in toxicological investigation of drug-facilitated crimes: Report of 128 cases over the period June 2003 - May 2004 in metropolitan Paris. *Forensic Science International*. 2005, Bde. 153: 3-10.
- Costa, de Souza Y.R., Lavorato, S.N., Carvalho Moraes de Campos Baldin, J.J.** Violence against women and drug-facilitated sexual assault (DFSA): A review of the main drugs. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2020, Bd. 74: 01-10.
- Crews, B., Mikel, C., Latyshev, S., West, R., Pesce, A.** Unstable Propoxyphene Metabolite Excreted in Human Urine is Detected by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*. 2009, Bde. 33: 379-383.
- Deutschlandfunk.** Tagesschau. [Online] 17. Oktober 2019. [Zitat vom: 15. 02 2021.] <https://www.tagesschau.de/inland/spahn-vergewaltigungsoffer-101.html>.
- Deveaux, M., Chèze, M., Pépin, G.** The role of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) to test blood and urine samples for the toxicological investigation of drug-facilitated crimes. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2008, Bde. 30: 225-228.

Djezzar, S., Questel, F., Burin, E., Dally, S. Chemical submission: results of 4-year French inquiry. *International Journal of Legal Medicine*. 2009, Bde. 123: 213-219.

Dreher, J. *Psychopharmakotherapie griffbereit: Medikamente, psychoaktive Genussmittel und Drogen*. Stuttgart : Schattauer GmbH, 2015.

DuMont, J., Macdonald, S., Rotbard, N., Asllani, E., Bainbridge, D., Cohen, M.M. Factors associated with suspected drug-facilitated sexual assault. *Canadian Medical Association Journal*. 2009, Bde. 180: 513-519.

Elian, A.A., Hackett, J. Anion exchange SPE and liquid chromatography-tandem mass spectrometry in GHB analysis. *Journal of Chromatography B*. 2011, Bde. 879: 3752-3758.

ElSohly, H., Stanford, D., Jones, A., ElSohly, M., Snyder, H., Pedersen, C. Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of morphine and codeine in human urine of poppy seed eaters. *Journal of Forensic Science*. 1988, Bde. 33: 347-356.

EMA. Anhang II: Wissenschaftliche Schlussfolgerungen und Begründung der EMA für die Aussetzung der Genehmigung für das Inverkehrbringen. [Online] 2012. [Zitat vom: 29. 11 2021.] https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2012/20120330118430/anx_118430_de.pdf.

Europarat (Council of Europe) Committee on Equal Opportunities for Woman and Men, Strasbourg. Recommendation 1777 "Sexual assaults linked to 'date rape drugs'". [Online] 22. 01 2007. [Zitat vom: 05.08.2019.] <https://pace.coe.int/pdf/a880498ce7da371618df111d94350c60b56a34ccb959ed49e508959dedc89>.

Fiorentin, T.R., Logan, B.K. Toxicological findings in 1000 cases of suspected drug facilitated sexual assault in the United States. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2019, Bde. 61:56-64.

Freissmuth, M., Offermanns, S., Böhm, S. *Pharmakologie & Toxikologie*. Heidelberg : Springer Medizin Verlag, 2020.

Grela, A., Gautam, L., Cole, M.D. A multifactorial critical appraisal of substances found in drug facilitated sexual assault cases. *Forensic Science International*. 2018, Bde. 292: 50-60.

Gross, J.H. *Massenspektrometrie - Ein Lehrbuch*. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 2013.

GTFCh. Anhang B zur Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. Anforderungen an die Validierung von Analysemethoden. [Online] 2009. [Zitat vom: 30.11.2021.]

https://www.gtfch.org/cms/images/stories/media/tk/tk76_3/richtlinieanhangb2009-06-01.pdf.

Hagemann, C.T., Helland, A., Spigset, O., Espnes, K.A., Ormstad, K., Schei, B. Ethanol and drug findings in women consulting a Sexual Assault Center - Associations with clinical characteristics and suspicions of drug-facilitated sexual assault. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2013, Bde. 20: 777-784.

Hall J., Goodall, E.A., Moore, T. Alleged drug facilitated sexual assault (DFSA) in Northern Ireland from 1999 to 2005. A study of blood alcohol levels. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2008, Bde. 15: 497-504, A.

Hall, J.A., Moore, C.B.T. Drug facilitated sexual assault - A review. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2008, Bde. 15: 291-297, B.

Hart, H., Craine, L.E., Hart, D.J., Hadad, C.M. *Organische Chemie*. Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2007. 3. Auflage.

Hausinterne Verfahrensanweisung, Toxikologie - Institut für Rechtsmedizin UKE. Extraktionsmethode Ethylacetat ("Essigesterextrakt"). *SOP 2.42.17 Version 07*. Stand: 24.11.2021.

Hindmarch, I., Brinkmann, R. Trends in the use of alcohol and other drugs in cases of sexual assault. *Human Psychopharmacology: Clinical & Experimental*. 1999, Bde. 14: 225-231.

Hindmarch, I., ElSohley, M., Gambles, J., Salamone, S. Forensic urinalysis of drug use in cases of alleged sexual assault. *Journal of Clinical Forensic Medicine*. 2001, Bde. 8: 197-205.

Hurley, M., Parker, H., Wells, D.L. The epidemiology of drug facilitated sexual assault. *Journal of Clinical Medicine*. 2006, Bde. 13: 181-185.

Institut für Rechtsmedizin, Arbeitsbereich Toxikologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Informationen zu sogenannten K.O.-Tropfen. Bd. Version 02; Stand 02/2015.

Kahl, K.W., Seither, J.Z., Reidy, L.J. LC-MS-MS vs ELISA: Validation of a Comprehensive Urine Toxicology Screen by LC-MS-MS and a Comparison of 100 Forensic Specimens. *Journal of Analytical Toxicology*. 2019, Bde. 43:734-745.

Kintz, P. *Toxicological Aspects of Drug-Facilitated Crimes*. s.l. : Elsevier Inc., 2014.

LeBeau, M.A. Guidance for improved detection of drugs used to facilitate crimes. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2008, Bde. 30: 229-233.

LeBeau, M.A., Mozayani, A. *Drug-Facilitated Sexual Assault: A Forensic Handbook*. USA : Academic Press, 2001.

Ltd, UCB Pharma. Fachinformation: Xyrem® 500 mg/mL Lösung zum Einnehmen. Stand: 2015.

Lüllmann, H., Mohr, K., Hein, L. *Pharmakologie und Toxikologie*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2010. 17. Auflage.

Macherey-Nagel. Chromatographie: Säulen und Zubehör - Katalog. 2018.

Madea, B., Mußhoff, F. K.o.-Mittel: Häufigkeit, Wirkungsweise, Beweismittelsicherung. *Deutsches Ärzteblatt*. Jg. 106, 15.Mai.2009, Bd. 20.

Marinetti, L. Recommended Minimum Performance Limits for Common DFC Drugs and Metabolites in Urine Samples. [Online] Chair of the SOFT DFC Committee, 06/2017. [Zitat vom: 29. 11 2021.] http://soft-tox.org/files/minperflimits_dfc2017.pdf.

Mata, D.C. Stability of 26 Sedative Hypnotics in Six Toxicological Matrices at Different Storage Conditions. *Journal of Analytical Toxicology*. 2016, Bde. 40:663-668.

Mehling, L., Johansen, S.S., Wang, X., Doberentz, E., Madea, B., Hess, C. Drug facilitated sexual assault with lethal outcome: GHB intoxication in a six-year-old girl. *Forensic Science International*. 2016, Bde. 259: e25-e31.

Murray, K.K., Boyd, R.K., Eberlin, M.N., Langley, G.J., Li, L., Naito, Y. Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013). *Pure and Applied Chemistry*. 2013, Bde. 85, No. 7: 1515-1609.

Mußhoff, F., Madea, B. CME-Weiterbildung: K.-o.-Mittel. *Rechtsmedizin*. Juni 2008, Bd. 18, Heft 3.

Mutschler, E., Geisslinger, G., Menzel, S., Gudermann, T., Hinz, B., Ruth, P. *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Pharmakologie - Klinische Pharmakologie - Toxikologie*. Stuttgart : Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, 2020. 11. Auflage.

neuraxpharm Arzneimittel GmbH. Fachinformation: Methocarbamol-neuraxpharm®. Stand: Juni 2017.

Novartis Consumer Health GmbH. Fachinformation: Scopoderm TTS®. Stand: Januar 2011.

Olsen, K.R., Anderson, I.B., Benowitz, N.L., Blanc, P.D., Clark, R.F., Kearney, T.E., Kim-Katz, S.Y., Wu, A.H.B. *Poisoning & Drug Overdose.* USA : McGraw-Hill Education, 2018. 7. Auflage.

Olszewski, D. Sexual assaults facilitated by drugs and alcohol. *©European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction.* 2008.

Papdodima, S.A., Athanaselis, S.A., Spiliopoulou, C. Toxicological investigation of drug-facilitated sexual assaults. *International Journal of Clinical Practice.* 2007, Bde. 61:259-264.

Parkin, M. C., Turfus, S. C., Smith, N. W., Halket, J. M., Braithwaite, R. A., Elliot, S. P., Osselton, D. M., Cowan, D. A., Kicman, A. T. Detection of ketamine and its metabolites in urine by ultra high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B.* 2008, Bde. 876: 137-142.

Parkin, M.C., Brailsford, A.D. Retrospective drug detection in cases of drug-facilitated sexual assault: challenges and perspectives for the forensic toxicologist. *Bioanalysis.* 2009, Bde. 1 (5): 1001-1013.

Pfizer Pharma GmbH. Edronax® 4mg Tbaletten (Reboxetin). Stand: Oktober 2015.

Poulsen, H., McCarthy, M., Baker, J., Verma, A., Moir, H.J., Brodie, T., Thatti, B., Trotter, G., Rooney, B. Toxicological Assessment of the Role of Alcohol and Drugs in Drug-Facilitated Sexual Assault Cases in New Zealand. *Journal of Analytical Toxicology.* 2020, Bde. 00:1-9.

Prego-Meleiro, P., Montalvo, G., Quintela-Jorge, Ó., García-Ruiz, C. Increasing awareness of the severity of female victimization by opportunistic drug-facilitated sexual assault: A new viewpoint. *Forensic Science International.* 2020, Bd. 315.

Ramadan, A., Wenanu, O., Cock, A., Maes, V., Lheureux, P., Mols, P. Chemical submission to commit robbery: A series of involuntary intoxications with flunitrazepam in Asian travellers in Brussels. *Journal of Forensic Medicine.* 2013, Bde. 20: 918-921.

ratiopharm GmbH. Fachinformation: Duloxetine-ratiopharm® magensaftresistente Hartkapseln. Stand: November 2018.

ratiopharm GmbH. Fachinformation: Citalopram-ratiopharm® 10 mg/20mg/40mg Filmtabletten. Stand: Juni 2019.

ratiopharm GmbH. Fachinformation: Hustenstiller-ratiopharm® Dextromethorphan. Stand: September 2016.

ratiopharm GmbH. Fachinformation: Propofol-ratiopharm MCT 10 mg/ml Emulsion zur Injektion und Infusion. Stand: August 2016.

Reichl, F. *Taschenatlas Toxikologie.* Stuttgart : Georg Thieme Verlag KG, 2009. 3. Auflage.

Remane, D., Wetzel, D., Peters, F.T. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for screening for 100 analytes relevant in drug-facilitated crime. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 2014, Bde. 406: 4411-4424.

Restek. Raptor™ Biphenyl Säule - Broschüre. USA, 2018.

Restek. Raptor™ C18 - Broschüre. USA, 2018.

Rücker, G., Neugebauer, M., Willems, G.G. *Instrumentelle pharmazeutische Analytik.* Stuttgart : Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2013. 5. Auflage.

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH. Buprenorphin Sanofi® 2 mg Sublingualtabletten. Stand: Juli 2021.

Schütz, H., Jansen, M., Dettmeyer, R., Verhoff, M.A. (1) Vom Alkohol zum Liquid Ecstasy (GHB)-ein Überblick über alte und moderne K.-o.-Mittel; Teil 1: Historische und klassische K.-o.-Mittel. *Archiv für Kriminologie.* 2011, Bde. 228: 89-95.

Schütz, H., Jansen, M., Verhoff, M.A. (2) Vom Alkohol zum Liquid Ecstasy (GHB)-ein Überblick über alte und moderne K.-o.-Mittel; Teil 2: Benzodiazepine und andere Sedativa/ Hypnotika. *Archiv für Kriminologie.* 2011, Bde. 228: 145-150.

Scott-Ham, M., Burton, F.C. Toxicological findings in cases of alleged drug-facilitated sexual assault in the United Kingdom over a 3-year period. *Journal of Clinical Forensic Medicine.* 2005, Bde. 12: Pages 175-186.

Separation Science HPLC Solutions in collaboration with John Dolan. LC-MS Calibration vs. Tuning. *Technical Article.* [Online] [Zitat vom: 28. 09 2020.] <https://blog.sepscience.com/liquidchromatography/hplc-solutions-5-lc-ms-calibration-vs.-tuning>.

Sheliya, K.G., Shah, K.V. Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC): A Modern Chromatography Technique. *Pharma Science Monitor.* 2013, Bde. Volume 4: 78-99.

Shibata, M., Hashi, S., Nakanishi, H., Masuda, S., Katsura, T., Yano, I. Detection of 22 antiepileptic drugs by ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applicable to routine therapeutic drug monitoring. *Biomedical Chromatography*. 2012, Bde. 26: 1519-1528.

Steinhilber, D., Schubert-Zsilavec, M., Roth, H.J. *Medizinische Chemie: Targets, Arzneistoffe, Chemische Biologie*. Stuttgart : Deutscher Apotheker Verlag, 2010. 2. Auflage.

Stimpfl, T., Muller, K., Gergov, M., LeBeau, M., Sporkert, F., Weinmann, W. Recommendations on Sample Collection for Systematic Toxicological Analysis. *Bulletin of the International Association of Forensic Toxicologists*. 2009, Bde. Volume XXXIX (1): 10-11.

Tiemensma, M., Davies, B. Investigating drug-facilitated sexual assault at a dedicated forensic centre in Cape Town, South Africa. *Forensic Science International*. 2018, Bde. 288: 115-122.

Vereinte Nationen - United Nations office on drugs and crime, Laboratory and Scientific Section. Guidelines for the forensic analysis of drugs facilitating sexual assault and other criminal acts. [Online] Dezember 2011. https://www.unodc.org/documents/scientific/forensic_analys_of_drugs_facilitating_sexual_assault_and_other_criminal_acts.pdf.

Waters Corporation. ACQUITY UPLC I-Class IVD. *System Guide*. 2014. 715003736IVD / Revision C.

Waters Corporation. ACQUITY UPLC I-Class IVD. *Sample Manager mit Durchflussnadel - Benutzerübersicht und Wartungsanleitung*. 2020. 715003737DEIVD / Revision D.

Waters Corporation. AQUITY UPLC Columns - Broschüre. USA, 2015.

Waters Corporation. Mass Lynx TQ-S V4.2 SCN982.

Waters Corporation. Waters™ - Our Story. [Online] [Zitat vom: 28. 09 2020.] <https://www.waters.com/nextgen/us/en/about-waters/our-story.html>.

Waters Corporation. XEVO TQ-S IVD. *Übersicht und Wartungsanleitung*. 2020. 715002212DEIVD Version 03.

Anhang

a) Auflistung der verwendeten Gefahrstoffe nach GHS

Die in dieser Arbeit verwendeten Lösungsmittel und Referenz-Substanzen (wie unter Punkt 5.1 aufgeführt) waren gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 gekennzeichnet.

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
7-Aminoclonazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
7-Aminoflunitrazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
7-Aminonitrazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
7-Hydroxyquetiapin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
9-Hydroxyrisperidon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Aceton	GHS02, GHS07 EUH066**	H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P305, P351, P338
Alpha-Hydroxyalprazolam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Alpha-Hydroxybromazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H319, H332	P210, P280, P305, P351, P38, P405
Alpha-Hydroxymidazolam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Amantadin	GHS07, GHS05, GHS08, GHS09	H302, H314, H361, H411	P260, P273, P280, P303, P361, P353, P305, P351, P338, P310, P331, P391
Ameisensäure	GHS02, GHS05, GHS06 EUH071***	H226, H302, H314, H331	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P310, P305, P351, P338
Amisulprid	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Ammoniumformiat	GHS07	H319	P264, P280, P305, P351, P338, P337, P313
Atomoxetin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Atropin	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Baclofen	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H319, H332	P210, P280, P305, P351, P338, P405
Benperidol	GHS06, GHS07	H311, H330, H302	P260, P280, P284, P301, P312, P405, P501
Bromazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Carbamazepin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H317, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Cetirizin	GHS07	H302	
Chlordiazepoxid	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Chlorpheniramin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Chlorprothixen	GHS06	H302	P301, P310
Citalopram	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Clobazam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P260, P280, P301, P310, P311
Clomethiazol	GHS05, GHS07	H302, H317, H318	P280, P301, P312, P330, P302, P352, P305, P351, P338, P310
Clomipramin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Clonidin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Clorazepat	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P260, P264, P270, P280, P301, P310, P304, P340, P303, P361, P353, P307, P311, P405
Clozapin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Codein	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Dehydroaripiprazol	GHS02, GHS05, GHS06, GHS08	H225, H290, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Dehydronorketamin	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Demoxepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Desalkylflurazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Desmethylclobazam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Desmethylnirtazapin	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Desmethylnanzapin	GHS02, GHS07	H225, H302, H319	P210, P233, P240, P241, P301, P312, P305, P351, P338
Dextromethorphan	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Dextrorphan	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Diazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Diazepam-d5	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Dichlormethan	GHS07, GHS08	H315, H319, H336, H351	P201, P202, P261, P302, P352, P305, P351, P338, P308, P313
Dihydrocodein	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Dihydrocodein-d6	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Dimetinden	GHS07	H302	P264, P270, P301, P312, P330, P501
Diphenhydramin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Dosulepin	GHS07	H302,	P301, P312, P330
Doxylamin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
EDDP	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Essigsäure 100 % (Eisessig)	GHS02, GHS05	H226, H314	P210, P233, P240, P280, P303, P361, P353, P305, P351, P338
Estazolam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P260, P280, P301, P310, P311
Ethylacetat	GHS02, GHS07	H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P305, P351, P338
Ethosuximid	GHS07	H302	P301, P312, P330
Etomidat	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H400, H302	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Felbamat	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Flunitrazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Fluoxetin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Flupentixol	GHS07	H302	P301, P312, P330
Fluphenazin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Fluvoxamin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Gabapentin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
GHB	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
GHB-d6	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Haloperidol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Hydrocodon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Hydrocodon-d3	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Hydromorphon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Hydroxyzin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Imipramin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Kaliumhydroxid	GHS05, GHS07	H290, H302, H314	P234, P260, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P305, P351, P338
Ketamin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Ketamin-d4	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Lamotrigin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Levetiracetam	GHS07	H302, H319	P301, P312, P330, P305, P351, P338
Levomepromazin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H302	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Lorazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Lorazepam-d4	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Lormetazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Maprotilin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Medazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H319, H332	P210, P280, P305, P351, P338, P405
Melperon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H302, H315, H319, H335	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Meperidin (Pethidin)	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Methadon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Methadon-d9	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Methanol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Methocarbamol	GHS07, GHS08	H302, H317, H334	P280, P301, P312, P330, P302, P352
Mianserin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Midazolam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Midazolam-d4	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Mirtazapin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Morphin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Morphin-d3	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Nalbuphin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
N-Desmethylycitalopram	GHS07	H302	P264, P270, P301, P312, P330, P501
N-Desmethylytapentadol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Nitrazepam	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Norclozapin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Norcodein	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P260, P280, P301, P310, P311
Nordazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren- Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Nordazepam-d5	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Nordiphenhydramin	GHS07	H302	P264, P270, P301, P312, P330, P501
Nordoxepin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Norfluoxetin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Norhydrocodon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Norketamin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Norketamin-d4	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Normeperidin (Norpethidin)	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Normianserin	GHS07	H302	
Norpropoxyphen	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Norsertralin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Nortilidin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Nortriptylin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
O-Desmethyltramadol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
O-Desmethylvenlafaxin	GHS07, GHS08	H302, H319, H361, H362, H412	P260, P263, P280, P305, P351, P338, P405, P501
Olanzapin	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Olanzapin-d8	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Opipramol	GHS07, GHS09	H302, H410	P273, P301, P312, P330

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Oxazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Oxycodon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Oxymorphon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Paroxetin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Pentazocin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Pentobarbital	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Pentobarbital-d5	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Pentoxyverin	GHS07	H302, H312, H315, H319, H332, H335	P261, P280, P305, P351, P338
Perazin	GHS07	H315, H319, H302, H312, H332	P264, P280, P305, P351, P338, P321, P332, P313, P337
Perphenazin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H302, H317, H361FD, H371, H373	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Perphenazinsulfoxid	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H302	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Phenazepam	GHS02, GHS07, GHS08	H225, H302, H312, H332, H319, H340	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P308, P313
Phenobarbital	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Phenobarbital-d5	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Phenytoin	GHS07, GHS08	H302, H351, H360FD	P202, P264, P270, P280, P301, P312, P308, P313
Pimozid	GHS07	H302	
Pipamperon	GHS07	H302	
Pregabalin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Primidon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Promethazinsulfoxid	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P260, P264, P301, P310, P403, P235
Propoxyphen	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Prothipendyl	GHS07	H302	P264, P270, P301, P312, P330, P501
Quetiapin-d8	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Reboxetin	GHS07, GHS08	H302, H360, H362, H373	P260, P263, P280, P301, P312, P405, P501
Risperidon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Scopolamin	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Sulpirid	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H361, H317, H412	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Tapentadol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Temazepam	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Thioridazin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Tilidin-d6	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Tizanidin	GHS07	H302, H315, H319, H335	P301, P312, P330, P305, P351, P338
Topiramamat	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Tramadol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H319, H336, H411	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Trichloressigsäure	GHS05, GHS07, GHS09	H314, H318	P260, P280, P303, P361, P353, P305, P351, P338

Substanz	Gefahren-Piktogramme*	H-Sätze	P-Sätze
Triethylamin	GHS02, GHS05, GHS06	H225, H302, H311, H331, H314, H335	P210, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P304, P340, P311, P305, P351, P338, P310
Trimipramin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Valproinsäure	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Venlafaxin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Venlafaxin-d6	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Vigabatrin	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Ziprasidon	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Zolpidem	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370, H361d, H302, H336, H412	P210, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P405, P501
Zolpidem-d6	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P280, P301, P310, P330, P302, P352, P312, P304, P340, P311
Zolpidem-phenyl-4-carboxylic-acid	GHS02, GHS07	H225, H302, H319	P210, P233, P240, P241, P301, P312, P305, P351, P338,
Zopiclon	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332, H319	P210, P280, P301, P312, P303, P361, P353, P304, P340, P305, P351, P338
Zopiclon-N-oxid	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P280, P301, P310, P303, P361, P353, P304, P340, P311
Zuclopenthixol	GHS07	H302, H315; H319, H335	P261, P280, P305, P351, P338, P321, P405, P501

*Die verwendeten Abkürzungen entsprechen den folgenden Piktogrammen



Flamme
GHS02



Ätzwirkung
GHS05



Totenkopf mit
gekreuzten Knochen
GHS06



Ausrufezeichen
GHS07



Gesundheitsgefahr
GHS08



Umwelt
GHS09

** EUH066 – wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen

***EUH071 – wirkt ätzend auf die Atemwege

Tabelle 17: Massenspektrometrische Daten Methode A, B, C, D

Methoden A	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Benzodiazepine	Alprazolam	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	308,1	309,2	281,2	26	205,1	34
	α-Hydroxyalprazolam	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄ O	324,1	325,2	297,2	28	216,2	34
	Bromazepam	C ₁₄ H ₁₀ BrN ₃ O	315,0	318,1	209,1	26	182,1	30
	α-Hydroxybromazepam	C ₁₄ H ₁₀ BrN ₃ O ₂	331,0	334,1	289,0	20	78,0	30
	Chlordiazepoxid	C ₁₆ H ₁₄ ClN ₃ O	299,1	300,1	283,0	14	227,1	26
	Demoxepam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	286,1	287,1	180,1	20	105,0	22
	Clobazam	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	300,1	301,1	259,1	20	224,0	30
	Desmethylclobazam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	286,1	287,1	245,1	20	210,1	32
	7-Aminoclonazepam	C ₁₅ H ₁₂ ClN ₃ O	285,1	286,1	222,1	22	121,1	28
	Diazepam	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	284,1	285,2	193,1	28	154,1	26
	Estazolam	C ₁₆ H ₁₁ ClN ₄	294,1	295,1	267,1	24	205,1	38
	Flunitrazepam	C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃	313,1	314,2	268,2	24	239,3	30
	7-Aminoflunitrazepam	C ₁₆ H ₁₄ FN ₃ O	283,1	284,2	227,1	22	135,2	24
	Desalkylflurazepam	C ₁₅ H ₁₀ ClFN ₂ O	288,0	289,1	139,9	24	226,0	24
	Lorazepam	C ₁₅ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	320,0	321,2	194,1	40	228,9	35
	Lormetazepam	C ₁₆ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₂	334,0	334,9	177,0	38	253,1	36
	Medazepam	C ₁₆ H ₁₅ ClN ₂	270,1	271,1	207,1	24	165,0	34
	Midazolam	C ₁₈ H ₁₃ ClFN ₃	325,1	326,1	291,1	28	244,0	26
	α-Hydroxymidazolam	C ₁₈ H ₁₃ ClFN ₃ O	341,1	342,0	203,0	24	324,1	26
	Nitrazepam	C ₁₅ H ₁₁ N ₃ O ₃	281,1	282,0	236,1	26	180,1	26
7-Aminonitrazepam	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O	251,1	252,1	93,9	38	146,2	26	

Method A	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Benzodiazepine	Nordazepam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O	270,1	271,1	208,1	30	140,1	26
	Oxazepam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	286,1	287,0	241,1	20	104,0	36
	Phenazepam	C ₁₅ H ₁₀ BrClN ₂ O	347,9	348,9	183,9	32	241,9	26
	Temazepam	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	300,1	300,9	176,9	38	255,0	38
	α-Hydroxytriazolam	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O	358,0	359,1	331,0	26	176,1	28
	Zolpidem	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O	307,2	308,2	263,2	24	235,4	30
	Zolpidem-phenyl-4-carboxylic-acid	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₃	337,1	338,7	265,3	32	92,1	48
	Zopiclon	C ₁₇ H ₁₇ ClN ₆ O ₃	388,1	389,1	245,1	18	217,1	32
	Zopiclon-N-oxide	C ₁₇ H ₁₇ ClN ₆ O ₄	404,1	405,1	143,3	14	112,0	58
Antihistaminika	Cetirizin	C ₂₁ H ₂₅ ClN ₂ O ₃	388,2	389,1	201,1	20	165,9	40
	Chlorphenamin	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₂	274,1	275,1	201,3	32	125,1	36
	Dimetinden	C ₂₀ H ₂₄ N ₂	292,2	293,2	232,2	34	220,5	34
	Diphenhydramin	C ₁₇ H ₂₁ NO	255,2	256,1	167,1	12	152,0	32
	Nordiphenhydramin	C ₁₆ H ₁₉ NO	241,1	242,1	167,1	12	152,0	32
	Doxylamin	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O	270,2	271,1	182,1	30	167,1	58
	Hydroxyzin	C ₂₁ H ₂₇ ClN ₂ O ₂	374,2	375,1	173,2	12	165,8	38
Myotonolytika	Baclofen	C ₁₀ H ₁₂ ClNO ₂	213,1	214,1	116,1	32	151,1	17
	Flupirtin	C ₁₅ H ₁₇ FN ₄ O ₂	304,1	305,2	196,2	16	109,1	24
	Methocarbamol	C ₁₁ H ₁₅ NO ₅	241,1	242,1	118,1	15	199,1	8
	Tizanidin	C ₉ H ₈ ClN ₅ S	253,0	254,1	186,0	22	156,9	38

Methode A	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Opiode	Codein	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299,2	300,3	215,2	22	165,1	40
	Norcodein	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285,1	286,1	121,1	24	225,1	22
	Dihydrocodein	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301,2	302,2	199,1	32	128,0	54
	Hydrocodon	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299,2	300,2	198,9	30	170,8	38
	Norhydrocodon	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285,1	286,1	171,1	34	213,1	24
	Hydromorphon	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285,1	286,2	157,1	40	185,1	28
	Methadon	C ₂₁ H ₂₇ NO	309,2	310,2	223,2	22	219,1	24
	EDDP	C ₂₀ H ₂₃ N	277,2	278,2	249,2	24	186,2	34
	Morphin	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285,1	286,2	201,1	24	165,1	34
	Nalbuphin	C ₂₁ H ₂₇ NO ₄	357,2	358,2	272,1	26	161,1	40
	Oxycodon	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	315,1	316,2	256,1	26	241,1	30
	Oxymorphon	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301,1	302,2	198,1	40	227,1	28
	Pentazocin	C ₁₉ H ₂₇ NO	285,2	286,2	218,1	20	159,0	28
	Pethidin	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂	247,2	248,2	174,2	18	70,1	26
	Norpethidin	C ₁₄ H ₁₉ NO ₂	233,1	234,2	56,2	20	160,2	14
	Propoxyphen	C ₂₂ H ₂₉ NO ₂	339,2	340,2	58,1	10	266,2	10
	Norpropoxyphen RAP	C ₂₁ H ₂₇ NO ₂	325,2	308,2	100,1	10	44,1 143,0	12 20
	Tapentadol	C ₁₄ H ₂₃ NO	221,2	222,1	135,1	18	77,0	38
	N-Desmethyltapentadol	C ₁₃ H ₂₁ NO	207,2	208,1	107,1	22	135,1	16
	Nortilidin	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	259,2	261,2	156,1	16	77,0	36
Tramadol	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263,2	264,2	58,2	12	121,0	34	
O-Desmethyltramadol	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂	249,2	250,2	58,2	12	106,9	28	

Methoden A	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Andere Substanzen	Atropin	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	289,2	290,1	124,1	22	92,9	28
	Clomethiazol	C ₆ H ₈ ClNS	161,0	162,0	112,9	22	126,0	18
	Clonidin	C ₉ H ₉ Cl ₂ N ₃	229,0	230,0	159,9	32	44,1	22
	Dextromethorphan	C ₁₈ H ₂₅ NO	271,2	272,4	171,2	38	147,2	30
	Dextrorphan	C ₁₇ H ₂₃ NO	257,2	258,2	133,1	28	157,1	34
	Ketamin	C ₁₃ H ₁₆ ClNO	237,1	238,1	125,0	26	179,0	16
	Norketamin	C ₁₂ H ₁₄ ClNO	223,1	224,0	124,9	22	153,7	22
	Dehydronorketamin	C ₁₂ H ₁₂ ClNO	221,1	222,1	141,9	20	170,0	20
	Pentoxiverin	C ₂₀ H ₃₁ NO ₃	333,2	334,2	145,1	24	91,0	48
	Scopolamin	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303,1	304,1	138,1	24	156,2	14
Interne Standards	Diazepam-d5	C ₁₆ H ₈ D ₅ ClN ₂ O	289,1	290,2	154,1	26		
	Dihydrocodein-d6	C ₁₈ H ₁₇ D ₆ NO ₃	307,1	308,3	174,2	44		
	Hydrocodon-d3	C ₁₈ H ₁₈ D ₃ NO ₃	302,1	303,1	199,1	28		
	Ketamin-d4	C ₁₃ H ₁₂ D ₄ ClNO	241,1	242,0	183,0	14		
	Nordazepam-d5	C ₁₅ H ₆ D ₅ ClN ₂ O	275,1	276,1	140,3	28		
	Norketamin-d4	C ₁₂ H ₁₀ D ₄ ClNO	227,1	228,1	128,9	22		
	Methadon-d9	C ₂₁ H ₁₈ D ₉ NO	318,2	319,3	226,1	22		
	Midazolam-d4	C ₁₈ H ₉ D ₄ ClFN ₃	329,1	330,1	248,0	24		
	Morphin-d3	C ₁₇ H ₁₆ D ₃ NO ₃	288,1	289,2	165,2	38		
	Zolpidem-d6	C ₁₉ H ₁₅ D ₆ N ₃ O	313,2	314,2	263,1	26		

Methode B	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Atypische Neuroleptika	Amisulprid	C ₁₇ H ₂₇ N ₃ O ₄ S	369,2	370,0	149,0	48	241,9	22
	Dehydroaripiprazol	C ₂₃ H ₂₅ Cl ₂ N ₃ O ₂	445,1	446,1	285,2	26	98,0	42
	Clozapin	C ₁₈ H ₁₉ ClN ₄	326,1	326,9	269,9	18	191,9	42
	Norclozapin	C ₁₇ H ₁₇ ClN ₄	312,1	313,0	164,2	60	252,9	20
	Olanzapin	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ S	312,1	313,0	256,0	20	212,9	28
	Desmethyloanzapin	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ S	298,1	299,1	230,0	22	198,0	38
	7-Hydroxyquetiapin	C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₃ S	399,2	400,1	269,0	26	237,0	40
	Risperidon	C ₂₃ H ₂₇ FN ₄ O ₂	410,2	411,1	191,1	20	163,1	44
	9-Hydroxyrisperidon	C ₂₃ H ₂₇ FN ₄ O ₃	426,2	427,0	110,1	40	179,0	44
	Sulpirid	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	341,1	342,0	214,1	30	112,2	25
Ziprasidon	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ OS	312,1	412,9	193,9	28	177,0	28	
Neuroleptika	Benperidol	C ₂₂ H ₂₄ FN ₃ O ₂	381,2	382,1	165,0	24	218,1	18
	Chlorprothixen	C ₁₈ H ₁₈ ClNS	315,1	315,9	235,8	22	221,0	34
	Flupenthixol	C ₂₃ H ₂₅ F ₃ N ₂ OS	434,2	435,1	305,1	25	100,1	25
	Fluphenazin	C ₂₂ H ₂₆ F ₃ N ₃ OS	437,2	438,1	171,1	22	247,9	54
	Haloperidol	C ₂₁ H ₂₃ ClFNO ₂	375,1	376,0	123,0	36	95,0	58
	Levomepromazin	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ OS	328,2	329,1	100,1	16	58,1	20
	Levomepromazin-sulfoxid	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₂ S	344,2	345,0	228,1	30	314,0	20
	Melperon	C ₁₆ H ₂₂ FNO	263,2	264,1	165,1	12	123,0	22
	Perazin	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ S	339,2	340,1	179,1	40	141,1	20

Methode B	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Neuroleptika	Perphenazin	C ₂₁ H ₂₆ ClN ₃ OS	403,1	404,1	171,1	22	143,1	28
	Perphenazin-sulfoxid	C ₂₁ H ₂₆ ClN ₃ O ₂ S	419,1	420,0	232,0	42	143,1	32
	Pimozid	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₃ O	461,2	462,1	109,0	42	201,1	30
	Pipamperon	C ₂₁ H ₃₀ FN ₃ O ₂	375,2	376,2	165,1	20	291,1	20
	Promethazin-sulfoxid	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ OS	300,1	301,1	198,0	34	239,1	24
	Prothipendyl	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ S	285,1	286,0	180,9	40	213,0	26
	Thioridazin	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ S ₂	370,1	371,1	98,1	28	126,1	22
	Tiaprid	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₄ S	328,1	329,1	256,0	20	133,8	44
	Tiaprid-N-oxid	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₅ S	344,1	345,1	256,0	16	212,8	32
	Zuclopenthixol	C ₂₂ H ₂₅ ClN ₂ OS	400,1	401,6	100,1	26	231,1	38
Trizyklische Antidepressiva	Clomipramin	C ₁₉ H ₂₃ ClN ₂	314,1	315,1	242,0	20	227,0	36
	Dosulepin	C ₁₉ H ₂₁ NS	295,1	296,0	225,4	22	217,9	22
	Nordoxepin	C ₁₈ H ₁₉ NO	265,1	266,1	235,0	14	107,0	22
	Nortriptylin	C ₁₉ H ₂₁ N	263,2	264,1	233,1	14	191,1	22
	Imipramin	C ₁₉ H ₂₄ N ₂	280,2	281,1	208,1	24	193,0	38
	Maprotilin	C ₂₀ H ₂₃ N	277,2	278,1	250,1	18	178,1	34
	Opipramol	C ₂₃ H ₂₉ N ₃ O	363,2	364,1	171,1	16	206,1	26
	Trimipramin	C ₂₀ H ₂₆ N ₂	294,2	295,1	100,1	16	208,1	24
Weitere Psycho-pharmaka	Amantadin	C ₁₀ H ₁₇ N	151,1	152,1	93,1	24	79,0	24
	Atomoxetin	C ₁₇ H ₂₁ NO	255,2	256,1	148,1	8	44,1	10
	Citalopram	C ₂₀ H ₂₁ FN ₂ O	324,2	325,1	234,1	26	116,0	24

Methode B	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Weitere Psychopharmaka	N-Desmethylocitalopram	C ₁₉ H ₁₉ FN ₂ O	310,1	311,1	262,1	14	246,9	26
	Fluoxetin	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO	309,1	310,0	44,1	8	148,0	6
	Norfluoxetin	C ₁₆ H ₁₆ F ₃ NO	295,1	296,1	134,1	6	30,1	6
	Fluvoxamin	C ₁₅ H ₂₁ F ₃ N ₂ O ₂	318,1	319,1	258,4	10	200,0	20
	Memantin	C ₁₂ H ₂₁ N	179,2	180,1	107,1	24	121,1	22
	Mianserin	C ₁₈ H ₂₀ N ₂	264,2	265,1	117,8	28	208,0	20
	Normianserin	C ₁₇ H ₁₈ N ₂	250,1	251,1	132,0	20	193,0	30
	Mirtazapin	C ₁₇ H ₁₉ N ₃	265,1	266,1	195,1	22	72,0	16
	Desmethylnirtazapin	C ₁₆ H ₁₇ N ₃	251,1	252,0	195,0	14	167,1	40
	Paroxetin	C ₁₉ H ₂₀ FNO ₃	329,1	330,0	192,1	20	123,0	22
	Reboxetin	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	313,2	314,1	176,1	8	131,1	20
	Norsertalin	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₂ N	291,0	274,9	158,9	20	91,0	15
	Venlafaxin	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	277,2	278,1	215,1	16	147,1	22
	O-Desmethylvenlafaxin	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263,2	264,2	107,0	30	132,9	24
Antikonvulsiva	Carbamazepin	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,1	236,9	178,9	32	151,9	40
	Ethosuximid	C ₇ H ₁₁ NO ₂	141,1	142,1	72,1	12	114,1	10
	Gabapentin	C ₉ H ₁₇ NO ₂	171,1	172,2	137,0	16	95,1	22
	Lamotrigin	C ₉ H ₇ Cl ₂ N ₅	255,0	255,8	186,8	24	58,0	28
	Levetriacetam	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₂	170,1	171,1	126,1	15	69,0	24
	Phenytoin	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	252,1	253,1	182,1	16	104,1	34
	Pregabalin	C ₈ H ₁₇ NO ₂	159,1	160,0	142,1	10	97,1	14
	Topiramamat	C ₁₂ H ₂₁ NO ₈ S	339,1	340,0	264,0	8	282,0	4

Methode B	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Interne Standards	Quetiapin-d8	C ₂₁ H ₁₇ D ₈ N ₃ O ₂ S	391,2	392,2	226,2	25		
	Venlafaxin-d6	C ₁₇ H ₂₁ D ₆ NO ₂	283,2	284,2	120,9	24		

Methode C	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
Barbiturate	Phenobarbital	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	232,2	231,1	188,2	10	42,1	14
	Pentobarbital	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₃	226,2	225,2	182,2	10	42,1	14
	Primidon	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	218,2	219,1	190,1	8	119,1	14
Weitere Substanzen	Felbamat	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O ₄	238,2	239,1	178,1	6	117,1	16
	Vigabatrin	C ₆ H ₁₁ NO ₂	129,1	130,1	113,1	8	71	12
Interne Standards	Phenobarbital-d5	C ₁₂ H ₇ D ₅ N ₂ O ₃	237,2	236,1	193,1	12		
	Pentobarbital-d5	C ₁₁ H ₁₃ D ₅ N ₂ O ₃	231,2	230,1	42,1	14		

Methode D	Analyt	Summenformel	Monoisotopische Masse	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion 1 (m/z)	CE ₁ (eV)	Produkt-Ion 2 (m/z)	CE ₂ (eV)
	GHB	C ₄ H ₈ O ₃	104,1	103,0	85,0	12	101,0; 56,9	12; 12
	Valproinsäure	C ₈ H ₁₆ O ₂	144,2	143,1	143,1	4		
ISTD	GHB-d6	C ₄ H ₂ D ₆ O ₃	110,1	108,9	89,9	10	61,0	12

Tabelle 18: Chromatographie- und Validierungsergebnisse Methode A, B, C, D

Methode A	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Benzodiazepine	Alprazolam	12,82	1,455	1,783	0	5	5	3	98	91	96
	α-Hydroxyalprazolam	11,38	0,897	1,652	-13	-6	7	8	95	97	96
	Bromazepam	9,91	1,592	2,275	-12	-10	6	10	86	98	96
	α-Hydroxybromazepam	8,48	2,418	3,670	-18	-14	5	1	87	98	< 24
	Chlordiazepoxid	7,91	1,990	3,158	47	45	13	10	99	96	96
	Demoxepam	10,19	2,305	3,725	-25	-27	9	3	107	74	96
	Clobazam	11,77	0,668	1,636	-12	-5	1	-3	86	75	72
	Desmethyloclobazam	10,58	1,788	2,646	-16	-5	3	2	94	76	96
	7-Aminoclonazepam	6,41	0,702	2,256	24	27	4	1	68	58	24
	Diazepam	12,87	0,737	2,418	3	3	-1	-1	84	76	96
	Estazolam	11,99	1,037	2,448	-23	-17	3	2	94	82	96
	Flunitrazepam	11,93	0,718	1,940	0	5	1	-1	86	84	96
	7-Aminoflunitrazepam	8,02	0,894	1,744	28	28	9	3	82	95	96
	Desalkylflurazepam	11,16	1,370	2,063	-3	1	-1	2	92	85	< 24
	Lorazepam	10,65	1,053	1,783	-22	-12	3	2	98	90	96
	Lormetazepam	11,95	1,007	1,869	-12	-11	0	1	95	92	96
	Medazepam	9,58	1,505	2,036	-20	-12	0	-2	90	85	96
	Midazolam	9,07	0,184	0,995	20	21	1	0	76	90	96
	α-Hydroxymidazolam	9,40	0,580	1,144	3	7	-3	1	90	87	96
	Nitrazepam	10,68	0,890	2,762	20	21	1	0	81	93	< 24
7-Aminonitrazepam	4,16	5,089	15,256	12	25	2	-1	67	65	24	

Methode A	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Benzodiazepine	Nordazepam	11,38	1,019	2,279	-10	-5	-3	-2	89	82	24
	Oxazepam	10,78	0,699	1,693	-23	-19	7	2	81	100	96
	Phenazepam	11,80	0,907	1,443	-1	1	-2	0	75	101	48
	Temazepam	12,03	0,982	2,087	-5	-1	-3	-4	89	101	48
	α -Hydroxytriazolam	11,23	1,180	2,366	-15	-22	6	4	93	84	96
	Zolpidem	8,32	0,759	1,974	15	12	4	2	87	96	96
	Zolpidem-phenyl-4-carboxylic-acid	6,31	1,123	1,761	18	19	9	6	88	93	96
	Zopiclon	6,57	1,455	3,072	-4	-7	0	5	83	79	96
	Zopiclon-N-oxid	7,52	3,100	3,758	15	6	1	12	82	94	96
Antihistaminika	Cetirizin	10,93	0,918	1,721	2	11	1	6	99	91	96
	Chlorphenamin	6,43	2,287	3,675	-11	3	-4	0	95	91	96
	Dimetinden	6,45	3,100	3,519	10	21	0	-2	99	91	96
	Diphenhydramin	8,10	1,048	3,251	13	14	-2	0	94	98	96
	Nordiphenhydramin	7,72	3,191	6,744	23	24	15	14	100	101	96
	Doxylamin	4,95	1,912	2,707	7	6	6	3	97	84	96
	Hydroxyzin	9,78	2,089	2,480	-9	-10	-2	2	95	100	96
Myotonolytika	Baclofen	2,26	0,207	0,305	-21	-14	8	3	100	96	96
	Flupirtin	7,39	3,035	3,463	57	60	9	-5	93	87	96
	Methocarbamol	6,66	2,097	3,887	-5	7	3	7	74	82	96
	Tizanidin	3,17	1,966	3,243	-11	-4	4	-1	77	83	96

Methode A	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Opioide	Codein	3,90	2,190	2,952	10	11	-2	5	80	86	96
	Norcodein	2,95	1,446	2,977	6	8	2	1	77	93	96
	Dihydrocodein	3,78	2,248	3,927	19	21	3	0	102	100	96
	Hydrocodon	4,45	1,048	1,188	1	-1	1	2	98	76	96
	Norhydrocodon	3,66	2,753	4,541	21	19	12	2	83	82	96
	Hydromorphon	2,57	0,983	1,694	25	26	1	1	101	91	96
	Methadon	10,52	1,718	1,904	-5	-6	-6	2	87	81	96
	EDDP	9,71	0,651	2,273	2	2	-3	-2	94	81	96
	Morphin	2,04	0,904	3,281	18	19	15	7	96	85	48
	Nalbuphin	5,35	2,399	3,156	21	19	15	13	83	102	96
	Oxycodon	4,18	1,061	1,900	-9	-8	0	1	81	84	96
	Oxymorphon	2,20	0,811	2,198	22	22	7	11	87	99	96
	Pentazocin	7,29	0,268	1,045	14	18	1	4	80	91	96
	Pethidin	6,07	1,577	2,127	21	22	7	7	84	87	96
	Norpethidin	5,89	6,141	10,631	-1	-3	7	5	84	94	96
	Propoxyphen	9,20	4,380	11,744	20	15	5	1	78	89	96
	Norpropoxyphen RAP	9,83	2,217	2,605	10	18	5	10	94	100	96
	Tapentadol	5,28	1,007	1,643	-2	-6	1	1	75	90	96
	N-Desmethyltapentadol	4,75	10,061	23,537	12	11	2	4	79	85	48
	Nortilidin	6,24	1,090	1,408	-4	-4	-2	-2	80	86	96
Tramadol	5,54	12,172	21,440	39	39	23	18	82	91	96	
O-Desmethyltramadol	3,47	12,577	15,678	14	16	6	10	83	89	96	

Methode A	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Andere Substanzen	Atropin	4,85	0,537	2,305	18	20	5	6	80	94	96
	Clomethiazol	7,09	1,056	3,515	-24	-25	4	0	26	13	96
	Clonidin	2,98	0,234	1,628	1	2	-2	1	99	96	96
	Dextromethorphan	8,72	0,714	1,078	-2	-3	1	-2	97	87	96
	Dextrorphan	5,63	0,863	2,064	16	12	7	5	92	95	96
	Ketamin	5,67	0,831	1,395	7	5	1	2	90	94	96
	Norketamin	4,81	1,095	2,487	22	18	8	6	81	97	96
	Dehydronorketamin	4,24	1,827	2,130	-3	-3	4	9	81	87	96
	Pentoxyverin	9,74	1,125	1,406	-24	-24	2	-1	101	84	96
	Scopolamin	3,38	1,130	2,066	38	39	15	9	70	89	96
Interne Standards	Diazepam-d5	12,82							88		96
	Dihydrocodein-d6	3,72							77		96
	Hydrocodon-d3	4,42							85		96
	Ketamin-d4	5,61							90		96
	Nordazepam-d5	11,31							91		96
	Norketamin-d4	4,77							91		96
	Methadon-d9	10,48							89		96
	Midazolam-d4	9,03							89		96
	Morphin-d3	2,02							78		48
	Zolpidem-d6	8,26							86		96

Methode B	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Atypische Neuroleptika	Amisulprid	5,69	0,660	1,639	9	14	7	11	81	83	96
	Dehydroaripiprazol	10,96	1,131	1,873	-18	-24	0	2	75	63	96
	Clozapin	6,97	0,517	2,399	4	7	-1	1	100	90	96
	Norclozapin	5,95	1,525	1,810	16	12	-6	0	93	89	96
	Olanzapin	3,08	0,402	1,279	-4	14	-5	5	100	94	96
	Desmethylolanzapin	2,83	1,216	1,758	-150	-67	6	11	93	83	96
	7-Hydroxyquetiapin	5,42	1,131	1,641	7	11	-2	5	88	97	96
	Risperidon	8,67	1,179	3,221	-7	-1	-5	-4	99	65	96
	9-Hydroxyrisperidon	7,79	1,955	2,245	35	38	6	6	89	95	96
	Sulpirid	3,14	2,586	4,281	19	15	11	6	86	103	96
Ziprasidon	9,65	1,235	3,248	-2	-20	10	0	82	87	96	
Neuroleptika	Benperidol	8,29	1,430	3,052	-20	-16	-4	-3	88	81	96
	Chlorprothixen	10,73	0,911	1,457	-37	-32	2	-3	67	67	96
	Flupenthixol	11,09	1,476	2,422	-13	-23	-1	2	65	58	96
	Fluphenazin	10,84	1,294	1,542	-8	11	3	3	68	61	96
	Haloperidol	8,71	0,327	1,638	-12	-6	-2	-3	78	81	96
	Levomepromazin	10,31	1,011	2,911	10	2	-1	-9	98	87	96
	Levomepromazin-sulfoxid	8,58	0,710	0,888	18	22	2	8	96	97	96
	Melperon	7,14	11,145	13,769	-65	-50	-3	-1	103	96	96
	Perazin	9,77	0,385	1,686	-13	11	-2	3	85	77	96
	Perphenazin	10,76	1,482	2,226	-13	-6	7	-2	71	63	96

Methode B	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Neuroleptika	Perphenazin-sulfoxid	8,44	1,258	2,376	-9	-14	-1	2	92	86	96
	Pimozid	10,82	0,866	1,406	-84	-101	10	-7	90	66	48
	Pipamperon	4,51	0,508	1,779	-4	-4	-2	-2	93	83	96
	Promethazin-sulfoxid	7,13	1,269	2,429	11	15	2	3	84	92	96
	Prothipendyl	9,19	0,681	1,789	-9	0	-10	0	66	77	96
	Thioridazin	11,97	0,986	1,709	-56	-55	3	9	63	62	96
	Tiaprid	4,00	0,582	1,305	23	20	15	8	98	99	96
	Tiaprid-N-oxid	4,37	0,959	1,405	5	8	0	0	89	85	96
	Zuclopenthixol	11,22	9,730	34,029	-14	0	-4	-4	105	74	96
Trizyklische Antidepressiva	Clomipramin	10,48	1,728	2,481	-14	-1	1	0	96	69	96
	Dosulepin	9,84	2,460	3,160	2	-6	-2	10	89	90	96
	Nordoxepin	8,23	1,135	1,730	16	20	2	6	90	89	96
	Nortriptylin	9,68	0,837	1,895	1	-17	-1	-1	95	99	96
	Imipramin	9,55	0,728	1,905	-21	-24	1	4	100	84	96
	Maprotilin	9,54	1,972	2,271	-7	-11	-6	-9	91	86	96
	Opipramol	9,04	1,630	2,031	22	19	-2	2	95	94	96
	Trimipramin	10,04	1,575	2,162	-2	-2	3	4	87	82	96
Weitere Psychopharmaka	Amantadin	3,27	8,881	12,820	56	53	23	15	85	76	96
	Atomoxetin	8,49	8,984	17,855	-12	-9	2	1	83	84	96
	Citalopram	8,27	0,726	1,899	13	17	2	7	87	97	96

Methode B	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Weitere Psychopharmaka	N-Desmethylocitalopram	8,12	1,556	1,863	-15	-14	-1	2	96	94	96
	Fluoxetin	8,87	1,935	2,743	-11	-23	0	6	89	81	96
	Norfluoxetin	8,71	16,743	25,385	0	-7	0	-5	84	86	96
	Fluvoxamin	8,61	2,689	2,865	-16	-20	-13	-3	88	91	96
	Memantin	5,99	10,296	16,148	-95	-56	7	5	85	62	48
	Mianserin	8,66	2,303	3,354	7	8	-4	1	95	88	96
	Normianserin	8,33	0,220	1,501	-24	-48	5	10	96	77	96
	Mirtazapin	6,85	0,718	1,379	20	24	6	8	103	84	96
	Desmethylmirtazapin	6,07	3,663	4,371	18	-7	-4	4	103	96	96
	Paroxetin	9,68	1,914	2,818	-3	-3	-7	6	96	82	96
	Reboxetin	8,91	2,595	3,525	21	21	3	0	94	83	96
	Norsertralin	10,38	8,824	19,418	-89	-85	1	-9	99	65	96
	Venlafaxin	6,72	8,271	18,034	24	26	-2	1	93	82	96
	O-Desmethylvenlafaxin	4,24	13,847	27,160	22	25	8	13	81	99	96
Antikonvulsiva	Carbamazepin	9,93	1,785	1,990	-40	-63	13	9	93	79	48
	Ethosuximid	3,46	38,386	50,667	-48	-45	11	17	102	72	48
	Gabapentin	2,20	1,563	1,858	7	9	6	1	72	56	96
	Lamotrigin	4,41	1,157	2,744	6	18	10	11	77	80	96
	Levetriacetam	2,72	43,332	61,813	-4	10	8	15	71	95	96
	Phenytoin	9,19	1,584	2,672	-24	-45	5	5	94	91	96
	Pregabalin	1,56	14,813	16,331	18	18	6	6	27	28	96

Methode B	Analyt	RT (min)	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Antikonvulsiva	Topiramat	7,51	102,094	190,036	-70	-16	3	1	74	74	24
ISTD	Quetiapin-d8	8,81							87		96
	Venlafaxin-d6	6,69							82		96

Methode C	Analyt	RT (min)	LOD (mg/L)	LLOQ (mg/L)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
Barbiturate	Phenobarbital	5,91	0,337	0,514	0	0	2	7	74	73	72
	Pentobarbital	6,26	0,064	0,429	-3	-3	3	2	68	69	72
	Primidon	5,41	0,071	0,211	28	35	26	7	87	93	96
Weitere Substanzen	Felbamat	5,59	0,129	0,294	15	20	24	9	86	96	96
	Vigabatrin	0,90	2,918	16,185	3	10	3	0	0,4	0,4	72
ISTD	Phenobarbital-d5	6,25							74		72
	Pentobarbital-d5	5,90							68		72

Methode D	Analyt	RT (min)	LOD (mg/L)	LLOQ (mg/L)	Matrixeffekte		Standardabweichung		Wiederfindung		Stabilität (h)
					QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	QC1 (%)	QC2 (%)	
	GHB	1,19	0,840	2,499	-16	-19	4	7	1,7	1,4	96
	Valproinsäure	6,45	2,900	n.b.	47	43	19	13	14,7		96
ISTD	GHB-d6	1,16									96

n.b. = nicht bestimmbar

Tabelle 19: Zusammenfassung aller untersuchten K.-o.-Fälle

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F1	2017	Pol	w	k.A.	Raub	< 12 h	∅	∅	∅	∅	Coffein Benzoyllecgonin
F2	2017	Pol	w	k.A.	Sexualdelikt	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅
F3	2017	Pol	w	22	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅
F4	2017	Pol	w	33	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅
F5	2017	Pol	m	49	Raub	< 6 h	∅	Dehydroaripiprazol ++	∅	∅	Amlodipin Benzoyllecgonin Dehydroaripiprazol* Ramipril
F6	2017	Pol	w	k.A.	k.A.	< 36 h	∅	∅	∅	∅	Benzoyllecgonin
F7	2017	Pol	w	30	Raub + Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	Benzoyllecgonin
F8	2017	Pol	w	k.A.	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	BAK 1,08 ‰
F9	2017	Pol	w	23	k.A.	< 24 h	Nordazepam + Oxazepam ++ Temazepam +	∅	∅	∅	Duloxetin Nordazepam Oxazepam
F10	2017	Pol	m	k.A.	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	∅	∅
F11	2017	Pol	w	19	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F12	2017	Pol	w	18	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure
F13	2016/ 2017	Pol	w	34	Sexualdelikt	< 48 h	∅	∅	∅	∅	Amphetamin Benzoyllecgonin BAK 0,00 ‰
F14	2017	Pol	w	17	Raub	< 6 h	∅	∅	∅	∅	∅
F15	2017	Pol	w	21	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	Benzoyllecgonin Cocain BAK 0,62 ‰

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden	
							A	B	C	D		
F16	2017	Pol	w	15	k.A.	k.A.	7-Aminoclonazepam ++ Codein ++ Norcodein ++ Morphin +++	∅	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcgonin Codein MAM Morphin
F17	2017	Pol	w	22	k.A.	< 72 h	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F18	2017	Pol	w	22	k.A.	< 72 h	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F19	2017	Pol	w	21	k.A.	< 72 h	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F20	2017	Pol	w	28	Sexualdelikt	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅	BAK 0,00 ‰
F21	2017	Pol	w	k.A.	k.A.	< 72 h	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F22	2017	Pol	m	29	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F23	2017	Pol	w	22	Sexualdelikt	< 24 h	Dehydronorketamin +	Fluoxetin + Norfluoxetin (+)	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcgonin
F24	2017	Pol	w	28	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure BAK: 0,81 ‰
F25	2017	Pol	m	k.A.	Raub	< 36 h	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F26	2017	Pol	w	41	Sexualdelikt	< 24 h	7-Aminoclonazepam ++ 7-Aminoflunitrazepam + Cetirizin + Hydromorphon + Methadon ++ EDDP +++ Morphin +++	Pregabalin +++	∅	∅	∅	7-Aminoclonazepam 7-Aminoflunitrazepam* Buprenorphin Norbuprenorphin Cocain Benzoylcgonin Methadon EDDP Morphin* Pregabalin*
F27	2017	Pol	m	18	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅	∅
F28	2017	Pol	m	17	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅	∅

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F29	2017	Pol	m	17	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F30	2017	Pol	w	18	k.A.	< 48 h	∅	∅	∅	∅	MDA MDMA
F31	2017	Pol	w	25	Sexualdelikt	< 72 h	∅	∅	∅	∅	Benzoylcegonin
F32	2017	Pol	m	20	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	∅	THC- Carbonsäure
F33	2017	Pol	w	23	Sexualdelikt	< 24 h	∅	Pipamperon + Venlafaxin +++ O-Desmethylvenlafaxin +++	∅	∅	Venlafaxin
F34	2017	Pol	m	k.A.	Raub	k.A.	Chlorphenamin ++	∅	∅	∅	Chlorphenamin*
F35	2017	Pol	w	k.A.	Freiheitsberaubung	< 3 h	Diazepam ++ Nordazepam +++ Oxazepam ++ Temazepam +++ Triazolam ++	∅	∅	∅	Diazepam Nordazepam Oxazepam BAK 0,84 ‰
F36	2017	Pol	w	30	Sexualdelikt	< 24 h	∅	Citalopram ++ N-Desmethylcitalopram +++	∅	∅	Citalopram N-Desmethylcitalopram Cocain Benzoylcegonin
F37	2017	Pol	w	15	Sexualdelikt	< 24 h	Ketamin + Dehydronorketamin ++ Norketamin +	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcegonin Ketamin* Norketamin* Dehydronorketamin* MDMA MDA BAK 0,00 ‰

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F38	2017	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	Cocain Benzoylecgonin MDA MDMA THC-Carbonsäure
F39	2017	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure
F40	2017	Pol	w	17	k.A.	< 48 h	∅	Citalopram +++ N-Desmethylcitalopram +++	∅	∅	Citalopram N-Desmethylcitalopram AAK 0,55 ‰
F41	2017	Pol	w	40	Sexualdelikt	< 48 h	∅	∅	∅	∅	BAK 0,00 ‰
F42	2017	Pol	w	24	Sexualdelikt	< 24 h	∅	∅	∅	GHB ++	GHB*
F43	2017	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	Nortriptylin +++ Olanzapin +++ Desmethyloanzapin +++ Promethazin-sulfoxid (+)	∅	∅	Amitriptylin Nortriptylin Benzoylecgonin Olanzapin
F44	2017	Pol	w	22	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅
F45	2017	Pol	w	20	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅
F46	2017	Pol	w	23	Sexualdelikt	< 24 h	∅	∅	∅	∅	BAK 1,08 ‰
F47	2017	Pol	w	20	Gefährliche Körperverletzung	< 12 h	∅	∅	∅	∅	BAK 1,10 ‰
F48	2017	Pol	w	36	Sexualdelikt	< 6 h	∅	∅	∅	∅	BAK: 1,15 ‰
F49	2017	Pol	m	31	Gefährliche Körperverletzung	< 36 h	Cetirizin +++	∅	∅	∅	Cetirizin* MDA MDMA
F50	2017	Priv	m	30	k.A.	k.A.	∅	Citalopram ++ N-Desmethylcitalopram ++	∅	∅	Benzoylecgonin Citalopram* N-Desmethylcitalopram*
F51	2017	Priv	w	23	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	Ibuprofen

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F52	2017	Pol	w	17	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F53	2017	Pol	w	18	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F54	2017	Pol	w	19	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure
F55	2017	Pol	w	20	Sexualdelikt	k.A.	7-Aminoclonazepam +++ Diazepam + Nordazepam +++ Oxazepam +++ Temazepam +++	Pregabalin +++	∅	∅	Amphetamin Clonazepam 7-Aminoclonazepam Cocain Benzoylcgonin MDA MDMA Nordazepam Oxazepam
F56	2017/ 2018	Pol	w	k.A.	Körperverletzung	< 24 h	∅	∅	∅	∅	MDA MDMA BAK 0,00 ‰
F57	2017/ 2018	Pol	w	17	Sexualdelikt	< 6 h	∅	∅	∅	∅	BAK 0,87 ‰
F58	2018	Pol	w	k.A.	Raub	< 36 h	∅	∅	∅	∅	Duloxetin
F59	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	MDA MDMA THC-Carbonsäure
F60	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F61	2017/ 2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	k.A.	∅	7-Hydroxyquetiapin +	∅	∅	7-Hydroxyquetiapin* Cocain Benzoylcgonin MDA MDMA
F62	2017/ 2018	Pol	w	21	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	UAK 0,43 ‰
F63	2018	Pol	w	23	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F64	2017/2018	Pol	w	18	Sexualdelikt	< 12 h	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure BAK 0,00 ‰
F65	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	< 12 h	∅	Citalopram ++ N-Desmethylcitalopram +++	∅	∅	Citalopram BAK 1,08 ‰
F66	2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	< 24 h	Cetirizin +++ Morphin +	Fluoxetin +++ Norfluoxetin+++ Promethazin-sulfoxid +++	∅	∅	Fluoxetin* Norfluoxetin* Morphin* Promethazin-sulfoxid*
F67	2018	Pol	m	k.A.	Raub	< 6 h	Codein + Morphin ++	∅	∅	∅	Cocain Benzoylcgonin Codein MAM Morphin BAK 0,00 ‰
F68	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	Cetirizin +++	∅	∅	∅	∅
F69	2017/2018	Pol	w	26	Sexualdelikt	< 36 h	Cetirizin + Hydrocodon + Morphin +	Fluoxetin +++ Norfluoxetin +++	∅	∅	Fluoxetin Morphin* BAK 1,44 ‰
F70	2018	Pol	w	20	k.A.	< 24 h	∅	Citalopram + N-Desmethylcitalopram + Olanzapin + Desmethylolanzapin + Thioridazin +	∅	∅	∅
F71	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	< 12 h	Diazepam + Nordazepam ++ Oxazepam + Temazepam ++	∅	∅	∅	Nordazepam
F72	2018	Pol	w	28	Sexualdelikt	< 24 h	∅	Pipamperon (+)	∅	∅	THC-Carbonsäure BAK 2,54 ‰
F73	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	UAK 1,67 ‰
F74	2018	Pol	w	19	k.A.	k.A.	Cetirizin +++	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F75	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	< 24 h	Methadon +++ EDDP +++	∅	∅	∅	EDDP THC-Carbonsäure
F76	2018	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	∅	Fluoxetin (+)	∅	GHB +++	GHB BAK 0,00 ‰
F77	2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	k.A.	Diphenhydramin + Flupirtin + Lorazepam +++ OH-Midazolam +++ Tramadol + O-Desmethyltramadol +	∅	∅	∅	Diphenhydramin* Lorazepam OH-Midazolam* UAK 0,00 ‰
F78	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	< 3 h	∅	∅	∅	∅	∅
F79	2018	Pol	w	30	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	UAK 0,12 ‰
F80	2018	Pol	w	45	k.A.	< 12 h	∅	Venlafaxin +++ O-Desmethylvenlafaxin +++	∅	∅	Venlafaxin* O-Desmethylvenlafaxin* UAK 0,95 ‰
F81	2018	Pol	w	33	Sexualdelikt	k.A.	Diphenhydramin +	∅	∅	∅	Diphenhydramin* UAK 0,01 ‰
F82	2018	Pol	w	19	Sexualdelikt	< 6 h	Morphin (+)	Pipamperon (+)	∅	∅	Benzoylcgonin Morphin* BAK 0,52 ‰
F83	2018	Pol	w	26	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F84	2018	Pol	w	21	Sexualdelikt	k.A.	Cetirizin ++	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure
F85	2018	Pol	m	35	k.A.	k.A.	Methadon + EDDP +	∅	∅	∅	Cannabinoide IM +
F86	2018	Pol	m	57	Raub	< 24 h	Diazepam +++ Nordazepam +++ Oxazepam +++ Temazepam +++	∅	∅	∅	Nordazepam Oxazepam
F87	2018	Pol	w	23	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	UAK 0,14 ‰ BAK 1,00 ‰

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F88	2018	Pol	m	k.A.	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F89	2018	HA	w	20	k.A.	< 12 h	Cetirizin +++ Dimetinden +++ Morphin ++	∅	∅	∅	Ibuprofen Morphin Paracetamol Propofol
F90	2018	Priv	w	k.A.	k.A.	< 36 h	∅	∅	∅	∅	∅
F91	2018	Priv	m	37	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	Benzoylcgonin Cannabinoide IM +
F92	2018	Pol	w	13	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	∅	∅
F93	2018	Priv	m	k.A.	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F94	2018	Pol	w	55	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F95	2018	Priv	w	35	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	∅	∅
F96	2018	Priv	m	k.A.	k.A.	< 48 h	∅	∅	∅	∅	∅
F97	2018	Priv	w	19	k.A.	< 6 h	Cetirizin +++	∅	∅	∅	∅
F98	2018	Pol	w	18	Sexualdelikt	< 12 h	∅	∅	∅	∅	∅
F99	2018	Pol	w	27	Sexualdelikt	< 24 h	Cetirizin (+)	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain Benzoylcgonin
F100	2018	Priv	w	21	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	BAK 1,40 ‰
F101	2018	Priv	w	42	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	∅	∅
F102	2018	Pol	w	36	Sexualdelikt	< 24 h	Chlorphenamin ++	∅	∅	∅	Cannabinoide IM + BAK 1,02 ‰ UAK 1,10 ‰
F103	2018	HA	w	25	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	Cannabinoide IM +
F104	2018	Priv	w	29	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	AAK 1,60 ‰ UAK 0,30 ‰
F105	2018	Priv	w	19	Raub	< 12 h	∅	∅	∅	∅	BAK 0,71 ‰
F106	2018	Priv	m	43	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	Immunchemie ∅

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F107	2018	HA	w	22	k.A.	< 24 h	Dehydronorketamin + Norketamin (+)	∅	∅	∅	Cannabinoide IM + Cocain IM + Ecstasy IM + UAK 0,30 ‰
F108	2018	Pol	m	53	k.A.	< 24 h	Cetirizin +	∅	∅	∅	Cannabinoide IM +
F109	2018	Priv	w	19	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	Cocain IM + UAK 0,24 ‰
F110	2019	Pol	m	19	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F111	2019	Pol	w	20	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F112	2019	Pol	m	k.A.	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	Benzoylcgonin
F113	2019	Pol	w	20	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	BAK 0,00 ‰
F114	2019	Pol	m	24	Raub	k.A.	7-Aminoclonazepam +++ Codein + Methadon ++ EDDP++ Morphin ++	Pregabalin +++	∅	∅	Benzoylcgonin Buprenorphin Norbuprenorphin Codein* Methadon EDDP Morphin Pregabalin* THC-Carbonsäure AAK 0,37 ‰
F115	2019	Pol	m	34	Raub	< 24 h	∅	∅	∅	∅	UAK 2,54 ‰
F116	2019	Pol	w	25	Raub	< 72 h	Morphin +	Pipamperon +++	∅	∅	Amphetamin Morphin* Pipamperon* THC-Carbonsäure
F117	2019	Pol	w	k.A.	Sexualdelikt	< 24 h	Codein + Morphin ++	∅	∅	∅	Amphetamin Codein* Morphin
F118	2019	Pol	w	16	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F119	2019	Pol	m	k.A.	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	Benzoylcgonin THC-Carbonsäure
F120	2019	Pol	w	19	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F121	2019	Pol	w	23	Sexualdelikt	< 12 h	Nordazepam (+) Oxazepam + Temazepam (+)	∅	∅	∅	Oxazepam THC-Carbonsäure
F122	2019	Pol	w	22	k.A.	< 12 h	∅	∅	∅	∅	BAK 0,56 ‰ UAK 1,01 ‰
F123	2019	Pol	w	18	Sexualdelikt	< 24 h	∅	∅	∅	∅	UAK 0,71 ‰
F124	2019	Pol	w	19	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	UAK 0,73 ‰
F125	2019	Pol	w	k.A.	Sexualdelikt	k.A.	∅	∅	∅	∅	Cocain Benzoylcgonin UAK 0,00 ‰
F126	2019	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F127	2019	Pol	m	42	Raub + Freiheits- beraubung	< 72 h	∅	∅	∅	∅	Cocain Benzoylcgonin
F128	2019	Pol	w	24	k.A.	k.A.	Dextromethorphan ++ Dextrorphan +++	∅	∅	∅	Benzoylcgonin
F129	2019	Pol	w	18	k.A.	< 24 h	∅	Amisulprid (+)	∅	∅	UAK 0,12 ‰
F130	2019	Pol	w	k.A.	k.A.	k.A.	Lorazepam (+)	∅	∅	∅	Lorazepam* UAK 1,94 ‰
F131	2019	Pol	w	22	k.A.	< 12 h	Morphin (+)	∅	∅	∅	Morphin* BAK 0,81 ‰ UAK 1,29 ‰
F132	2019	Pol	m	34	k.A.	< 48 h	∅	∅	∅	∅	Benzoylcgonin
F133	2019	Pol	w	26	Sexualdelikt	< 6 h	∅	∅	∅	∅	BAK 0,81 ‰ UAK 1,09 ‰

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F134	2019	Pol	w	25	Sexualdelikt	< 72 h	∅	∅	∅	∅	BAK 0,00 ‰ UAK 0,01 ‰
F135	2019	Pol	w	k.A.	Sexualdelikt	< 12 h	∅	∅	∅	∅	Amphetamin Cocain MDMA UAK 2,30 ‰
F136	2019	Pol	m	33	k.A.	k.A.	Morphin +	∅	∅	∅	Morphin
F137	2019	Pol	w	55	Freiheitsberaubung	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F138	2019	Pol	m	k.A.	Raub	k.A.	Alprazolam +++ OH-Alprazolam +++	∅	∅	kein Material mehr	Alprazolam OH-Alprazolam Cocain Benzoylcgonin
F139	2019	Pol	w	42	Sexualdelikt	< 6 h	∅	∅	∅	∅	THC-Carbonsäure BAK 1,84 ‰ UAK 2,48 ‰
F140	2019	Pol	w	33	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	BAK 0,53 ‰ UAK 0,94 ‰
F141	2019	Priv	w	29	k.A.	< 12 h	Codein (+)	∅	∅	∅	∅
F142	2019	Priv	w	33	k.A.	< 36 h	Dextromethorphan (+) Dextrophan (+)	Maprotilin (+) Thioridazin (+)	∅	∅	∅
F143	2019	Priv	m	27	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F144	2019	Pol	m	19	k.A.	< 72 h	∅	∅	∅	∅	Benzoylcgonin MDA MDMA THC-Carbonsäure
F145	2019	Pol	w	15	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	UAK 1,05 ‰
F146	2019	Priv	m	32	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F147	2019	Pol	w	28	k.A.	k.A.	Lorazepam +++	∅	∅	GHB ++	GHB* Lorazepam
F148	2019	Pol	w	53	k.A.	k.A.	Lorazepam ++	∅	∅	∅	Lorazepam
F149	2019	Pol	w	21	Sexualdelikt	k.A.	Cetirizin ++ Morphin (+)	Lamotrigin (+) Promethazin-sulfoxid +++ 7-OH-Risperidon ++	∅	∅	Morphin* Promethazin-sulfoxid*
F150	2019	Pol	w	42	Raub	k.A.	∅	∅	∅	∅	∅
F151	2019	Priv	w	43	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	Valproinsäure ++	∅
F152	2019	HA	w	54	k.A.	< 6 h	∅	∅	∅	∅	MDA MDMA
F153	2019	HA	w	22	k.A.	< 48 h	∅	∅	∅	∅	UAK 0,00 ‰
F154	2019	HA	w	23	k.A.	> 72 h	∅	∅	∅	∅	Benzoylcgonin
F155	2019	Priv	m	k.A.	Raub	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F156	2019	Priv	m	78	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	keine Analyse	∅
F157	2019	HA	w	18	k.A.	k.A.	∅	∅	∅	∅	UAK 0,60 ‰
F158	2019	Pol	w	20	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	∅
F159	2019/ 2020	Pol	w	24	Sexualdelikt	< 6 h	Methocarbamol ++	∅	∅	∅	Methocarbamol* BAK 1,13 ‰ UAK 1,87 ‰
F160	2020	Pol	w	17	k.A.	< 24 h	Dextrorphan (+)	∅	∅	∅	Amphetamin THC-Carbonsäure
F161	2020	Pol	w	39	k.A.	k.A.	Diphenhydramin ++ Nordiphenhydramin +	∅	∅	∅	Diphenhydramin* Nordiphenhydramin*
F162	2020	HA	w	21	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	UAK 0,69 ‰

Fall	Jahr	Auftraggeber	w/m	Alter	angegebene Delikte	Zeitintervall	Methode				mit bisherigen Methoden gefunden
							A	B	C	D	
F163	2020	Pol	w	35	k.A.	< 72 h	∅	∅	∅	∅	BAK 1,50 ‰ UAK 0,00 ‰
F164	2020	Pol	w	34	k.A.	< 3 h	∅	∅	∅	∅	BAK 1,13 ‰ UAK 1,53 ‰
F165	2020	Pol	w	k.A.	Raub	< 24 h	∅	∅	∅	∅	Cannabinoide IM + Cocain IM + BAK 0,76 ‰ UAK 1,07 ‰
F166	2020	Pol	w	19	k.A.	< 24 h	∅	∅	∅	∅	UAK 0,00 ‰

Pol = Polizei; Priv = Privat; HA = Hausarzt; w = weiblich; m = männlich; k.A. = keine Angabe; ∅ = negativ; IM + = immunchemischer Test positiv; BAK = Blutalkoholkonzentration; UAK = Urinalalkoholkonzentration; AAK = Atemalkoholkonzentration; *Substanz wäre mit bisherigen Methoden auch erfasst worden, aber keine Angabe im ersten Befund, da eine Nachweisbarkeit der Substanz nicht mit ausreichender Sicherheit möglich war

Lebenslauf

entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Hamburg, den 30.01.2022

(Anne Szewczyk)