

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Burkhard Hinz

**Vergleich zwischen singularer GC/MSD und kombinierter
GC/MSD und GC/NPD zur qualitativen Analyse in akut klinisch-
toxikologischen Notfallsituationen mit unbekannter
Intoxikationsursache**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Medizin
der Universität Rostock

vorgelegt von
Nils Apel, geb. am 29. April 1991 in Halle /Saale
aus
Rostock

Rostock 2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

1. Gutachter: Prof. Dr. med. M. Walter
Institutsleiter für Klinische Chemie und
Laboratoriumsmedizin der
Universitätsmedizin Rostock
2. Gutachter: PD Dr. med. U. Walther
Leiter des Funktionsbereiches Klinische
Toxikologie und Toxikologische Analytik der
Universitätsmedizin Rostock
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. Haen
Leiter der Klinischen Pharmakologie am
Lehrstuhl mit Poliklinik für Psychiatrie und
Psychotherapie und am Lehrstuhl für
Pharmakologie und Toxikologie der
Universität Regensburg
- Dekan: Prof. Dr. med. univ. E. C. Reisinger
Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin
der Universitätsmedizin Rostock
- Datum der Einreichung: 26.08.2019
Datum der Verteidigung: 02.12.2020

Teile dieser Arbeit wurden am 27. Februar 2018 unter dem Titel „Comparison between singular gas chromatography mass spectrometry detection (GC/MS) and combined GC/MS plus GC nitrogen-phosphorus detection in general unknown screening of acute clinical toxicological analysis“ beim *84th Annual Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT)* präsentiert.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. rer. nat. B. Hinz danke ich für seine Erlaubnis und Unterstützung der Arbeit. Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. U. Walther für seine kritische Diskussionsbereitschaft, aufmerksame Förderung und hilfreiche Begleitung während der Planung, Durchführung und Anfertigung der Arbeit. Außerdem gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H. H. Maurer (ehemaliger Leiter der Abteilung Experimentelle und Klinische Toxikologie der Universität des Saarlandes), Frau Dr. rer. nat. D. Prasa (kommissarische Leiterin des Gemeinsamen Giftinformationszentrums der Länder Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen) und Dr. rer. nat. D. Rentsch (forensische Toxikologie der Universität Rostock) für die Zurverfügungstellung benötigter Unterlagen für diese Arbeit. Weiterhin möchte ich Frau Dipl.-Biochem. A. Berg, Herrn Dr. rer. nat. R. Schwarz und Frau E. Kriedel für die Unterweisungen in praktische Methoden danken.

Abschließend möchte ich im Besonderen meiner Frau Julia für die langjährige Begleitung, Unterstützung und Animation danken.

Inhaltsverzeichnis

Liste verwendeter Abkürzungen	VI
1. Einleitung.....	1
2. Fragestellung dieser Arbeit.....	10
3. Geräte, Materialien und Methoden	11
3. A Geräte.....	11
3. B Chemikalien	12
3. C Verwendete Substanzen	12
3. D Methoden	16
3. D I Zusammenstellung des basischen Puffers, LÖMI und IST	16
3. D II Zusammenstellung der in Methanol gelösten Substanzgemische	16
3. D III Zusammenstellung der aus Plasma extrahierten Substanzgemische...	17
3. D IV Konfiguration des GC/MSD.....	17
3. D V Auswertung der Analyseergebnisse über GC/MSD	19
3. D VI Konfiguration des GC/NPD	20
3. D VII Auswertung der Analyseergebnisse über GC/NPD.....	21
4. Ergebnisse	22
4. A Analyse von 154 in Methanol gelösten Substanzen über GC/MSD	22
4. B Analyse von 145 in Methanol gelösten Substanzen bei oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentration durch GC/MSD und GC/NPD	24
4. C Analyse von 145 aus Plasma extrahierten Substanzen bei oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentration durch GC/MSD und GC/NPD	25
4. D Anreicherungsfaktoren bei Analytik über GC/MSD	26
4. E Anreicherung durch Extraktion am Beispiel von Clobazam bei GC/MSD	30
4. F Anreicherungsfaktoren bei Analytik über GC/NPD.....	32
4. G Anreicherung durch Extraktion am Beispiel von Clobazam bei GC/NPD	35
4. H Sensitivität des GC/NPD in Abhängigkeit der Anzahl der Stickstoffatome ...	37
4. I Vergleich der Retentionszeiten (t_R) über GC/MSD und GC/NPD	39
4. J Vergleich der Detektionsergebnisse für aus Plasma extrahierte Substanzen über GC/MSD und GC/NPD.....	41
5. Diskussion	43
6. Schlussfolgerung und Thesen	53
6. A Schlussfolgerung	53
6. B Thesen.....	54
7. Literaturverzeichnis	55
8. Lebenslauf.....	62
9. Anhang.....	63

Liste verwendeter Abkürzungen

D	Mittlere relative Abweichung
DDD	defined daily dose - definierte Tagesdosis
GC	Gaschromatographie
GC/MSD	Massenselektiver Detektor gekoppelt an gaschromatographische Auftrennung
GC/NPD	Stickstoff-Phosphor-Detektor gekoppelt an gaschromatographische Auftrennung
GGIZ	Gemeinsames Giftinformationszentrum für die Bundesländer Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IST	Interner Standard
LÖMI	Standard-Lösungsmittelgemisch
log P	Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
m/z	Masse- zu Ladungsverhältnis
R	Retentionsindex
SIM	Selected ion monitoring
TIC	Total ion current
t _R	Retentionszeit
UMR	Universitätsmedizin Rostock

1. Einleitung

Bei akuter, akzidentieller bzw. suizidaler Intoxikation, stellt ein schnelles Erkennen der ursächlichen Substanzen eine wichtige Anforderung an die toxikologische Analytik dar. Die Analyse umfasst dabei ein Screening zur Identifikation der unbekannten Substanz(en). Der qualitativen Analyse folgt die Quantifizierung, sowie die fachärztliche Interpretation der Analyseergebnisse. Die Zeit der Analyse sollte hierbei so kurz wie möglich sein, damit die Ergebnisse einen Einfluss auf die klinischen Entscheidungen in den Notfallsituationen haben können.^{1,2} Das Screening auf unbekannte Substanzen bei akuter Intoxikation besteht oft aus einer Kombination aus Immunassay, flüssigchromatographischen und/oder gaschromatographischen Analysen,¹⁻⁸ wobei die verschiedenen Analyseverfahren ihre individuellen Vor- und Nachteile aufweisen.^{3,9-14}

Als Screeningverfahren stellt die Gaschromatographie (GC) eine gut etablierte Nachweismethode dar.^{10,15-17} Es handelt sich dabei um ein physikalisch-chemisches Trennverfahren, wobei die Substanzen eines Stoffgemisches zwischen zwei nicht mischbaren Phasen aufgetrennt werden und individuell detektiert werden können. Bei der GC strömt eine gasförmige, *mobile Phase*, welche die Substanzen mit sich führt, entlang der chromatographischen Trennstrecke an einer festen oder flüssigen, *stationären Phase* vorbei. Für die Gaschromatographie (und auch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie - HPLC) stellt die Chromatographiesäule, in welche die mobile Phase eingeleitet wird, die Trennstrecke dar. Wenn die stationäre Phase eine Trennflüssigkeit darstellt, handelt es sich um eine *Verteilungschromatographie (liquid gas chromatography)*. Wenn die stationäre Phase ein Feststoff darstellt, wie bei den in dieser Arbeit durchgeführten Analysen, handelt es sich um eine *Adsorptions-Chromatografie (solids gas chromatography)*. Als mobile Trägergase werden reaktionsträge Inertgase wie Helium verwendet. Die Chromatographiesäule befindet sich aufgewunden in einem thermostatisierten Ofen, welcher einen definierten und somit reproduzierbaren Temperaturverlauf sicherstellt. Niedrige Ofentemperaturen verschieben das Phasengleichgewicht zu Gunsten der stationären Phase, wodurch das Trennvermögen erhöht wird, aber die Analysezeit verlängert wird. Hohe Ofentemperaturen verschieben das Gleichgewicht zur mobilen Phase, wodurch ein geringeres Trennvermögen entsteht, allerdings die Analysezeit verkürzt wird. Nach der Auftrennung werden die Substanzen in den nachgeschalteten

Detektor geleitet. Der Detektor registriert eine geänderte Zusammensetzung des Trägergases, wandelt diese Information in ein elektrisches Signal um und übermittelt dieses mit einer Verstärkung an einen Computer (Abbildung 1). Dieser erstellt eine graphische Darstellung in Form eines Chromatogramms, wobei im Idealfall die elektrische Signalstärke in Abhängigkeit zur Zeit aufgezeichnet wird.^{18,19}

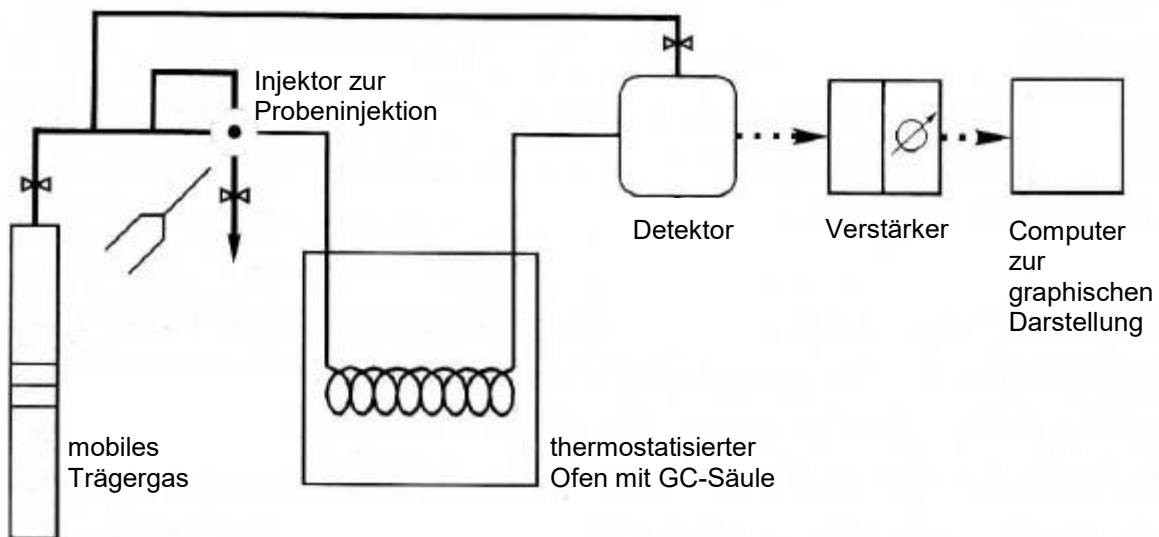


Abbildung 1

Skizzenhafte Darstellung eines Gaschromatographen (modifiziert nach W. Gottwald, GC für Anwender, S. 8, Wiley-VCH, Weinheim, 1995)¹⁹

Die zu analysierende Probe wird dem mobilen Trägergas über einen Injektor zugeführt. Die mit der Probe versehene, mobile Phase durchfließt die aufgewundene GC-Säule im thermostatisierten Ofen. Nach der chromatographischen Auftrennung registriert der Detektor die Änderung der Substanzzusammensetzung und übermittelt verstärkte, elektrische Signale an einen Computer.

Eine praktisch eindeutige Identifizierung der Substanzen gelingt jedoch nur durch angeschlossene Analyseverfahren. Aufgrund der Identifikationsmöglichkeit und der hohen Empfindlichkeit ist die Massenspektrometrie besonders geeignet und in der Literatur sind MS-Detektoren die am häufigsten verwendeten Detektoren bei gaschromatographischen Analysen (GC/MSD).^{20–26} Bei der Massenspektrometrie werden die Analyten ionisiert. So entstandene Ionen oder folgende Fragmentationen werden nach ihrem Masse- zu Ladungsverhältnis (m/z) getrennt. Die wichtigsten Merkmale stellen hierbei meist die mit der höchsten Intensität registrierten m/z , sowie deren Verhältnisse zueinander, dar. Danach kann ein automatischer Abgleich der analysierten Substanz mit einer Datenbank stattfinden, wonach eine prozentuale

Qualität ermittelt werden kann, mit der der detektierte Peak einem bekannten Vergleichsspektrum zugeordnet werden kann. Für diese Arbeit wurden die drei größten Massen- zu Ladungsverhältnisse m/z_1 , m/z_2 und m/z_3 einer Substanz im Besonderen herangezogen (Abbildung 2). Weiterhin weist jede Substanz einen spezifischen Retentionsindex (R) auf, der, nach Kalibrierung, auch mit Literaturdaten abgleichbar ist. Die kombinierte Betrachtung der Massenspektren und der Retentionsindizes erlaubt in der Regel eine eindeutige Identifikation der Substanz. Die international führende Spektrenbibliothek der klinischen Toxikologie über GC/MSD von Maurer, Pfleger und Weber wurde auch in dieser Arbeit verwendet.²⁷

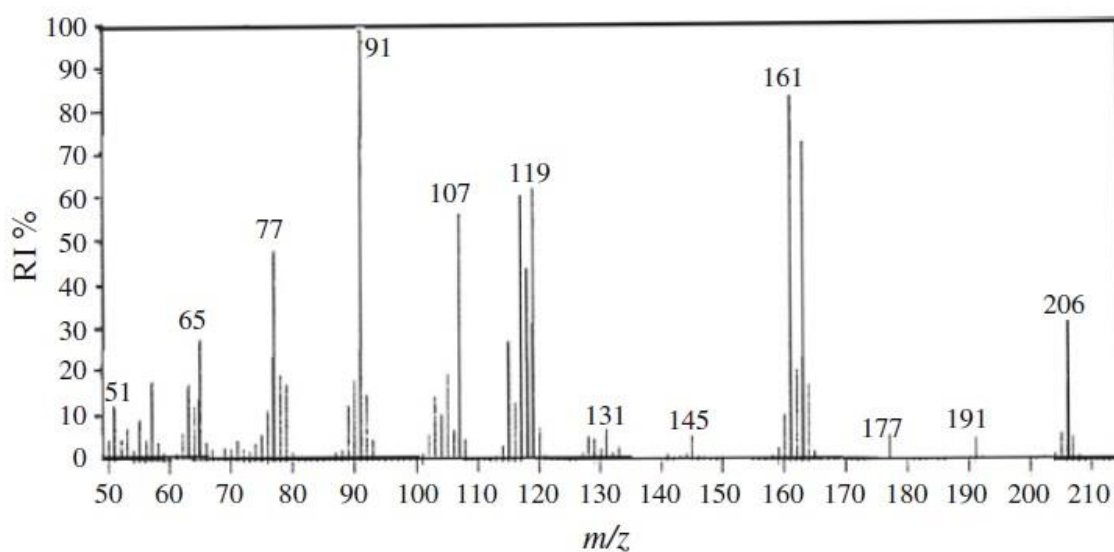


Abbildung 2

Massenspektrum am Beispiel von Ibuprofen²⁸

Über die individuellen Signalstärken der m/z und ihre Verhältnisse zueinander lassen sich Substanzen unter Einbezug von Spektrenbibliotheken eindeutig identifizieren. Ibuprofen weist seine drei Hauptmassen bei $m/z_1 = 91$, $m/z_2 = 161$ und $m/z_3 = 163$ auf.

Demgegenüber gibt es heutzutage in der Gaschromatographie weniger häufig verwendete Detektoren, welche thermoionische Verfahren verwenden. Zum Nachweis von stickstoff- und phosphorhaltigen Substanzen kann ein sogenannter Stickstoff-Phosphor-Detektor (GC/NPD) verwendet werden.^{29–35} Hierbei handelt es sich um einen Brenner, welcher Wasserstoff, der in einem Gemisch mit Helium vorliegt, als Trägergas verbrennt. Die Leitfähigkeit der so entstandenen Flamme wird über zwei Elektroden gemessen, wobei die Flammenspitze als Kathode und die über der Flamme befindliche Kollektorelektrode als Anode fungiert. Zwischen beiden Polen befindet sich

eine Perle aus Rubidium - oder Cäsium. Fließt ausschließlich Trägergas über die Flamme entstehen keine Spaltprodukte und die Leitfähigkeit der Flamme bleibt praktisch null. Werden dem Trägergas nun Substanzen beigefügt, entstehen durch die Verbrennung der Substanz Ionen, welche die Leitfähigkeit der Flamme ansteigen lässt. Eine stärkere Ionisierung erfahren nun stickstoff- und phosphorhaltige Substanzen beim Zusammentreffen mit der Rubidiumperle. In Folge dessen entsteht zwischen dem Kollektor und der Flammenspitze ein Strom, welcher in einem großen Konzentrationsbereich proportional zur Masse der jeweiligen Substanz ist¹⁹ (Abbildung 3).

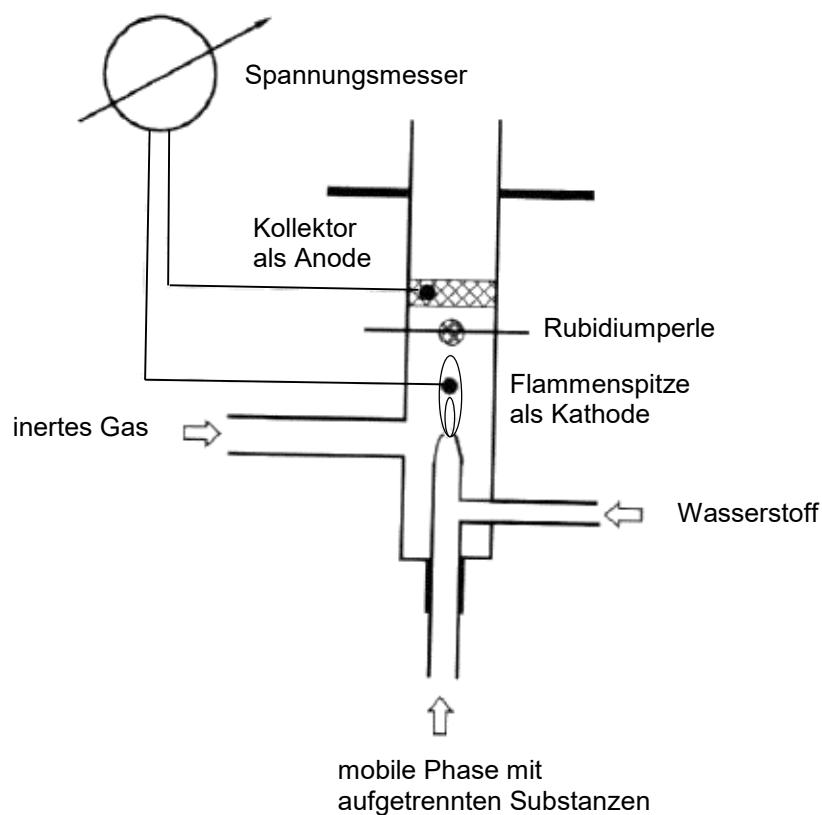


Abbildung 3

Skizzenhafte Darstellung eines Stickstoff-Phosphor-Detektors (modifiziert nach W. Gottwald, GC für Anwender, S. 78, Wiley-VCH, Weinheim, 1995)¹⁹

Fließt ausschließlich das Trägergas der mobilen Phase über die Flamme des Brenners, bleibt die Leitfähigkeit auf einem niedrigen Niveau. Wird eine Substanz mit der mobilen Phase verbrannt, entstehen Ionen, wodurch eine Änderung der Leitfähigkeit verzeichnet werden kann. Die Rubidiumperle verstärkt den Effekt der Leitfähigkeitsänderung bei stickstoff- und phosphorhaltigen Substanzen.

Die meisten Anforderungen klinisch-toxikologischer Analytik bei akuter Intoxikation entstehen in Folge einer überdosierten Arzneimittelaufnahme.^{8,36–38} Daher wurde in

dieser Arbeit der Fokus auf Arzneimittel als Ursache akuter Intoxikationen gelegt. Zur Ermittlung der in diese Arbeit einzuschließenden Arzneimittel wurden zunächst kumulative Daten der forensischen (Abbildung 4) sowie klinischen (Abbildung 5) Toxikologie der Universitätsmedizin Rostock (*UMR*) ausgewertet. Außerdem wurden statistische Daten zu nachgewiesenen Intoxikationen bzw. Intoxikationsverdachtsfällen des Gemeinsamen Giftinformationszentrums der Länder Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen (*GGIZ*) verwendet. Anschließend wurden die einzelnen Arzneimittel hinsichtlich ihrer toxikologischen Relevanz bewertet. Hierzu wurden die Pharmaka vorrangig bezüglich ihrer therapeutischen Breite beurteilt.^{39,40} Zum anderen wurden die verordneten definierten Tagesdosen (*DDD*), sowie Verordnungstrends der einzelnen Medikamente einer Arzneimittelgruppe nach den Auswertungen des *Arzneiverordnungs-Report 2015* betrachtet.⁴¹ War ein positiver Trend in der Verordnungshäufigkeit und/oder eine hohe DDD gegeben, wurde das entsprechende Arzneimittel eher in die Untersuchung eingeschlossen, entsprechend wurden Pharmaka bei negativem Trend und/oder einer niedrigen DDD eher ausgeschlossen.

Die forensische Toxikologie der UMR untersucht unnatürliche Todesfälle, Vergiftungen und Drogen- bzw. Medikamentenmissbräuchen durch eine Vielfalt von Analyseverfahren. Die Ergebnisse der nachgewiesenen Arzneimittel sind als gesammelte Statistik vom Jahre 1998-2012 für diese Arbeit verwendet worden (Abbildung 4 und Anhang 1).

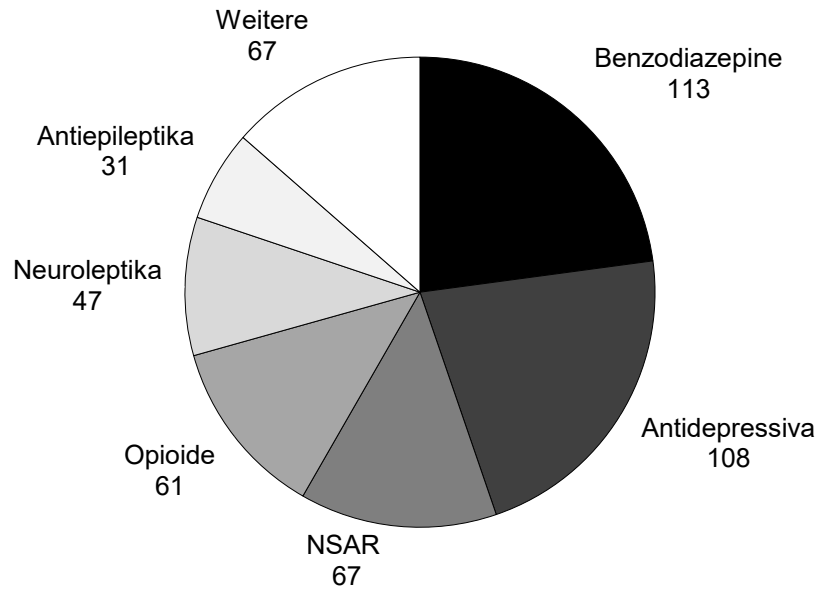


Abbildung 4

Gesamtanzahl der detektierten Arzneimittel der forensischen Toxikologie der UMR für die Jahre 1998-2012

Benzodiazepine, Antidepressiva und NSAR erbrachten mit 58% den größten Anteil an positiven Untersuchungsergebnissen der forensischen Toxikologie der UMR.

Die klinische Toxikologie der UMR betreibt ihre Analytik im Rahmen der klinisch-toxikologischen Notfallanalytik und der Hirntodfeststellung, sowie als therapeutisches Drug Monitoring einzelner Substanzen. Weiterhin analysiert die klinische Toxikologie der UMR Patientenproben hinsichtlich eines möglichen Substanzmissbrauchs. Die von der klinischen Toxikologie der UMR haupt- und nebenbefundlich, sowie durch Fremdanalyse detektierten Arzneimittel vom Jahre 2009-2013 wurden für diese Arbeit betrachtet und ausgewertet (Abbildung 5). Hierbei wurden auch Befunde zu nicht in toxischen Konzentrationen vorliegenden Analyten, sowie mögliche Mischintoxikationen eingeschlossen. Es wurden ausschließlich Arzneimittel betrachtet. Illegale Substanzen/Drogen wurden nicht berücksichtigt. Die Zuordnung der Einzelsubstanzen zu den Arzneimittelgruppen wurde zur besseren Übersichtlichkeit an die Gruppierung der forensischen Toxikologie angelehnt. Die Auflistung der Einzelsubstanzen ist dem Anhang 2 zu entnehmen.

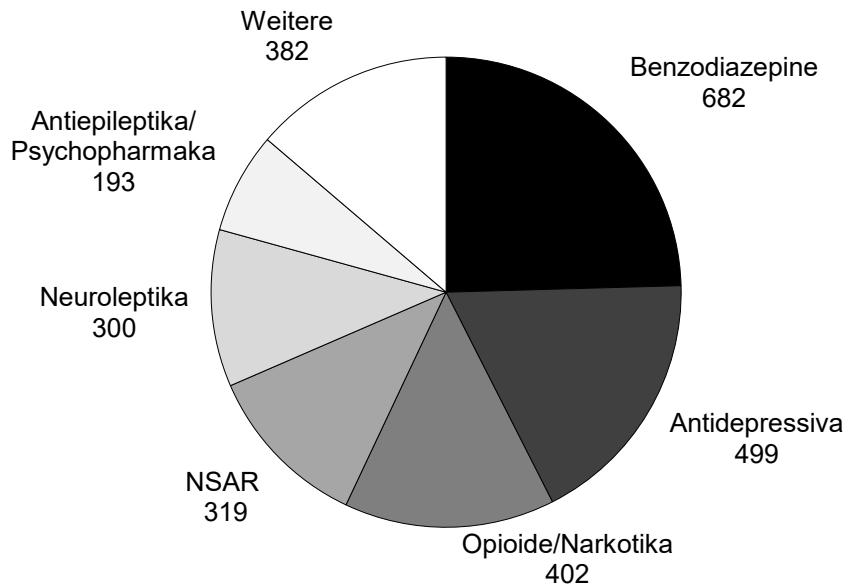


Abbildung 5

Gesamtanzahl der detektierten Arzneimittel der klinischen Toxikologie der UMR für die Jahre 2009-2013

Benzodiazepine, Antidepressiva und Opioide/Narkotika erbrachten mit 57% den größten Anteil an positiven Untersuchungsergebnissen der klinischen Toxikologie der UMR.

Das Gemeinsame Giftinformationszentrum (GGIZ) für die Bundesländer Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen ist eine öffentlich getragene Institution der Beratung im Falle einer vermuteten oder tatsächlichen Intoxikation mit Arzneimitteln, Drogen, Haushaltsprodukten, Lebensmitteln, Pflanzen, Tieren und Pilzen. Die Intoxikationen in Zusammenhang mit Arzneimitteln bilden den Hauptanteil aller Fälle der Giftberatung. In den Jahren von 2007-2016 waren Arzneimittel zu 61% bei Erwachsenen und 31% bei Kindern und Jugendlichen für Intoxikationen bzw. Intoxikationsverdachtsfällen verantwortlich. Aufgezeigt sind die zehn häufigsten Pharmaka, welche zu einer Intoxikation bzw. einem Intoxikationsverdachtsfall bei Erwachsenen im Zeitraum 2007-2016 geführt haben⁴² (Abbildung 6). Jedes der aufgeführten Arzneimittel gehört ebenfalls zu den 30 am häufigsten detektierten Einzelsubstanzen der klinischen Toxikologie der UMR für die Jahre 2009-2013. Außerdem gehören Diphenhydramin, Salbutamol und Methylphenidat zu den zehn häufigsten Medikamenten, die zu einer Intoxikation bzw. Intoxikationsverdachtsfall im GGIZ zwischen 2007-2016 im Kinder- und Jugendalter geführt haben.

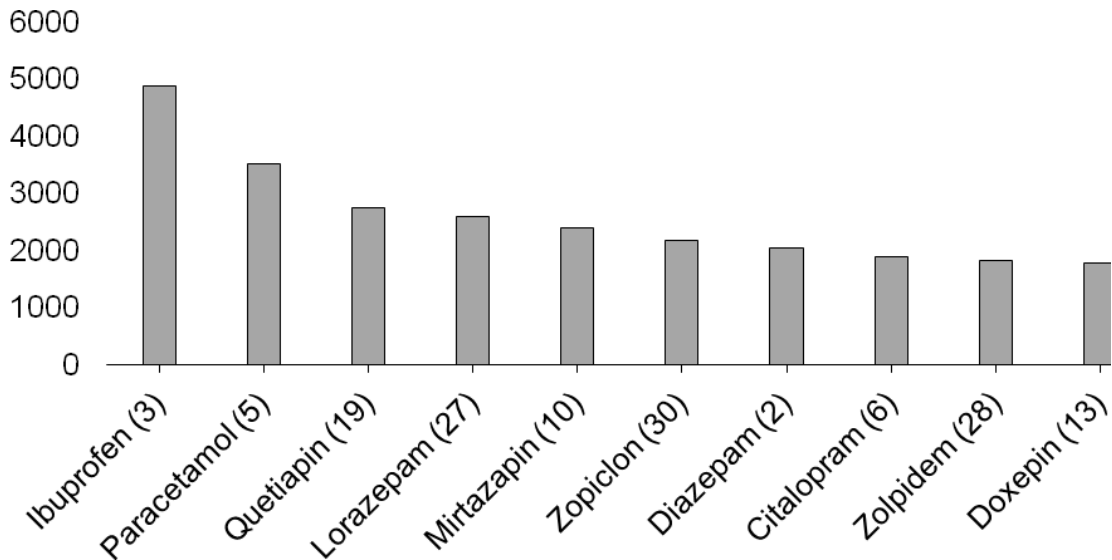


Abbildung 6

Die zehn häufigsten Arzneimittel, welche zu einer Intoxikation bzw. einem Intoxikationsverdachtsfall bei Erwachsenen im Zeitraum 2007-2016 führten (mit freundlicher Erlaubnis von Fr. Dr. Prasa, komm. Leiterin GGIZ; als Modifikation vorgelegt)⁴²

Die hinter dem Substanznamen aufgeführte Ziffer zeigt den Platz in der Häufigkeitsverteilung der detektierten Pharmaka durch die klinische Toxikologie der UMR zwischen den Jahren 2009-2013 an. Am Beispiel von Ibuprofen ist zu erkennen, dass es mit 4889 Fällen das häufigste Arzneimittel bei Erwachsenen war, welches von der GGIZ registriert wurde. An der UMR wurde es von der klinischen Toxikologie am dritthäufigsten (n = 94) detektiert. Nicht dargestellt sind Diphenhydramin, Salbutamol und Methylphenidat, welche zu den zehn häufigsten Arzneimitteln, nach GGIZ, zwischen den Jahren 2007-2016 im Kinder- und Jugendalter gehören.

Hinsichtlich der genauen Substanzauswahl für diese Arbeit wurden die Arzneimittel der oben erläuterten Quellen bezüglich ihrer therapeutischen Breite sowie unter Einbeziehung des *Arzneiverordnungs-Report 2015* beurteilt.

Im Hinblick auf den steigenden Verordnungstrend von Arzneimittel, die in den oben genannten Quellen nicht vorkommen, wurden beispielsweise Antihistaminika sowie antihypertensiv wirkende Substanzen, wie Pharmaka aus den Gruppen der ACE-Hemmer, β -Blocker und Calciumantagonisten mit in diese Arbeit aufgenommen (Tabelle 1).

Tabelle 1**Beurteilungskriterien hinsichtlich der Aufnahme der zu testenden Substanzen – exemplarische Auswahl**

Substanz	DDD, Mio.	Trend, %	c _{th} , µg/ml	C _{tox} , µg/ml	det.	Aufnahme
Clomipramin	3,0	-13,7	0,25	0,4	6	Ja
Felodipin	56,6	-1,9	0,005	0,01	0	Ja
Fluvoxamin	2,5	+87,8	0,25	0,5	0	Ja
Imipramin	2,1	-3,7	0,35	0,5	2	Ja
Sertralin	105,0	+38,6	0,25	0,3	3	Ja
Sumatriptan	17,5	+7,7	0,018	-	1	Nein
Trazodon	2,2	+22,1	1	1,2	0	Ja
Venlafaxin	175,3	+11,3	0,4	1	76	Ja
Ziprasidon	1,5	-50,2	0,05	0,4	2	Nein

Beispiele zur Beurteilung der Substanzauswahl hinsichtlich der Aufnahme in diese Arbeit anhand der DDD und Verordnungstrends von 2013-2014 (Trend)⁴¹, obersten therapeutischen Konzentrationen (c_{th})³⁹ und niedrigsten toxischen Konzentrationen (C_{tox})³⁹ und Detektionsanzahlen durch die klinische Toxikologie der UMR von 2009-2013 (det.) (alphabetisch geordnet)

Tabelle 1 zeigt an ausgewählten Beispielen in alphabetischer Reihenfolge die Substanzauswahl hinsichtlich der Aufnahme in diese Arbeit. So wurden Clomipramin und Imipramin trotz verhältnismäßig geringer DDD und negativem Verordnungstrend mit in die Untersuchung einbezogen, da sie bereits mehrfach detektiert wurden. Venlafaxin und Sertralin sind Beispiele für Medikamente mit relativ hohen DDD und stark positiven Verordnungstrend, sowie mehrfacher bisheriger Detektionen, womit sie in die Untersuchung einbezogen wurden. Trazodon wurde aufgrund einer geringen therapeutischen Breite und dem positiven Verordnungstrend mit in die Untersuchung aufgenommen. Fluvoxamin wurde aufgrund einer der größten Verordnungszuwachsraten mit in die Untersuchung aufgenommen. Felodipin, als ein Vertreter der antihypertensiv wirkenden Substanzen, wurde trotz negativem Verordnungstrend, großer therapeutischer Breite und keiner bisherigen Detektion in die Untersuchung eingeschlossen, da die Gesamtheit der Antihypertonika mit DDD =

1.969,6 Mio. eine der meistverordneten Medikamentengruppen darstellt und dies eine mögliche Überdosierung wahrscheinlicher machen könnte. Sumatriptan wurde trotz positivem Verordnungstrend und einmaliger Detektion aus der Untersuchung ausgeschlossen, da es keine nachgewiesenen, toxischen Plasmakonzentrationen für diese Substanz gibt. Ziprasidon wurde trotz zweimaliger Detektion, aufgrund einer relativ geringen DDD, negativen Verordnungstrend und großer therapeutischer Breite aus der Untersuchung ausgeschlossen.

2. Fragestellung dieser Arbeit

Bei akuten Intoxikationen mit unbekannten Substanzen wird ein rascher Analyseprozess benötigt, um nach Erkennen des toxischen Agens einen Einfluss auf die klinischen Entscheidungen sicherzustellen. Gleichzeitig sollte der Umfang der durch den Analysenprozess erkennbaren Arzneimittel größtmöglich sein. Diese Arbeit geht der Frage nach, ob im Falle einer Intoxikation mit ausgewählten Substanzen die kombinierte Detektion über GC/MSD und GC/NPD von Plasmaproben mehr positive Analyseergebnisse erbringt, als die alleinige Detektion über GC/MSD. Weiterhin soll mit dieser Arbeit abgewogen werden, ob die möglicherweise erweiterte Substanzerkennung bei kombinierter Analyse über GC/MSD und GC/NPD, die verlängerte Analysezeit in klinischen Notfallsituationen gegenüber der alleinigen Analyse über GC/MSD rechtfertigt.

3. Geräte, Materialien und Methoden

3. A Geräte

GC/MS Agilent GC 7890B, MS 5977A, Agilent Technologies, Santa Clara, USA

GC/NPD HP 5890 Series II Plus, Agilent Technologies, Santa Clara, USA

GC-Säule HP - 1MS, Filmdicke 0,33µm, Säulenlänge 25m und 12m, Agilent Technologies, Santa Clara, USA

GC-Liner Agilent Ultra Inert liner 5190-2295, V = 870 µl, Agilent Technologies, Santa Clara, USA

Eppendorf Zentrifuge 5417C, Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg

Rotofix 32A Zentrifuge, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen

Mixer Heidolph Rea 2000, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach

Eppendorf-Rüttler Mixer 5432, Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg

pH-Meter, pH 526, Sigma-Aldrich, Darmstadt

Pipetten Eppendorf Research 100-1000µl; 10-100µl; 50µl, Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg

Mikroliterspritze Gastight 1700 max. 500µl, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Pipettenspitzen ep T.I.P.S Standard 50-100µl, Standard/Bulk 20-200µl, Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg

Pipettenspitzen TipOne 10µl XL graduated Tip max. Vol 20µl, Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg

Eppendorf Tubes Safe-Lock Tubes 1,5ml, Safe-Lock Tubes 2ml, Firma Eppendorf Gerätebau, Hamburg

Glasvials Flasche R1 klar/6mm, CS-Service GmbH, Langerwehe

Glasvials Mikroeingang G30/6mm, CS-Service GmbH, Langerwehe

Glasvials Bördelekappe R11-1,0/HP, CS-Service GmbH, Langerwehe

Präzisionswaage Sartorius Basic Waage BA210S, Sartorius AG, Göttingen

3. B Chemikalien

Acetonitril, $\geq 99,95\%$, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Chloroform, $\geq 99,8\%$, J.T. Baker, Darmstadt

Wasser (LC-MS Grade), $\geq 99,999\%$, Merck KGaA, Darmstadt

Essigsäureethylester, $\geq 99,9\%$, Carl Roth GmbH & Co. KG, Dresden

Mepivacainhydrochlorid, Delta Selected GmbH, Dreieich

Methanol, $\geq 99,8\%$, Merck KGaA, Darmstadt

Natriumcarbonat, $\geq 99,5\%$, Honeywell Riedel-de Haen AG, Seetze

Natriumhydrogencarbonat, $\geq 99,7\%$, Merck KGaA, Darmstadt

Natriumhydroxid, $\geq 99\%$, Merck KGaA, Darmstadt

3. C Verwendete Substanzen

Tabelle 2
Analytisch und klinisch relevante Daten der verwendeten Substanzen

Substanz	Cth, $\mu\text{g/ml}$	Ctox, $\mu\text{g/ml}$	R	1. m/z	2. m/z	3. m/z	N	log P	t _{1/2} , h
4-Methylamino-Antipyrin	10	20	1980	123	215	56	3	-	-
Alfentanil	0,6	0,6 (-)*	2990	289	268	140	6	2,16	0,6-2,3
Alprazolam	0,05	0,4	3100	279	204	308	4	2,12	6-20
Amantadin	0,6	1	1240	94	57	151	1	2,44	9-15
Amitriptylin	0,3	0,5	2205	58	202	189	1	4,92	30-50
Amitriptylinoxid**	-	-	1975	232	215	202	1	-	-
Amlodipin**	-	-	3170	86	339	208	2	3	34-50
Aripiprazol	0,5	1	3400	243	84	285	3	4,5	60-80
Atenolol	1	2	2380	72	107	222	2	0,16	4-14
Atropin	0,025	0,05	2215	124	94	-	1	1,83	2-6,5
Baclofen**	0,4	1,1	1990	138	195	103	1	-0,96	6,1-7,5
Benazepril**	-	-	3080	379	218	91	2	3,5	10-11
Benperidol	0,01	0,02	3440	230	109	82	3	3,91	4-8
Biperiden	0,1	0,2	2280	98	218	311	1	4,25	18-24
Bisoprolol	0,1	0,5	2570	72	116	-	1	1,87	10-12
Bromazepam	0,2	0,3	2670	236	315	286	3	2,05	8-22
Brotizolam**	0,01	0,02	3090	394	392	245	4	2,79	4-10
Buprenorphin	0,005	0,1	3360	378	55	410	1	4,98	3-5
Bupropion**	0,02	1,2	1695	100	111	139	1	3,6	10-20
Buspiron	0,004	0,008	3300	277	265	177	1	2,63	2-3
Butylscopolamin	0,7	1,4 (-)*	2230	94	108	138	1	-0,6	4-5
Captopril	1	5	1925	70	140	-	1	0,34	1-2
Cetirizin	0,3	2	1600	167	165	202	2	-0,61	7-9

Substanz	Cth, µg/ml	Ctox, µg/ml	R	1. m/z	2. m/z	3. m/z	N	log P	t _{1/2} , h
Chloroquin	0,5	1	2595	86	319	112	3	4,63	da
Chlorprothixen	0,2	0,4	2510	58	221	255	1	5,18	8-12
Citalopram	0,11	0,22	2525	58	324	238	2	3,74	33
Clobazam	0,4	0,5	2610	300	77	255	2	2,12	18-42
Clomethiazol	2	4	1230	112	161	85	1	2,12	3-7
Clomipramin	0,25	0,4	2455	58	269	85	2	5,19	20-26
Clonazepam	0,08	0,1	2840	280	314	315	3	2,41	20-60
Clopidogrel	0,01	0,01 (-)*	2320	262	138	125	1	2,5	1,4-3,6
Clozapin	0,6 (0,35)*	0,6	2895	243	256	192	4	3,23	6-14
Codein	0,25	0,5	2375	299	162	229	1	1,19	3-4
Coffein	10	15	1820	194	109	55	4	-0,07	2-10
Desipramin	0,5	0,5	2225	195	235	208	2	4,9	15-25
Dextrometorphan	0,04	0,1	2145	59	271	150	1	3,6	2-4
Diazepam	2	3	2430	256	283	284	2	2,82	24-48
Diclofenac	3	50	2205	214	242	108	1	4,51	1-2
Dihydrocodein	0,25	0,5	2410	301	70	164	1	1,49	3-4
Diltiazem	0,25	1	2960	58	71	150	2	2,8	2-6
Dimethoat	0,5 (-)*	1 (-)*	1725	87	93	125	1(1)°	0,78	-
Dimetinden	0,05	0,15 (-)*	2290	58	292	218	2	4,98	6
Diphenhydramin	0,1	1	1870	58	73	165	1	3,27	4-10
Donepezil	0,075	0,15 (0,075)*	3150	91	175	379	1	3,6	70-100
Doxepin	0,2	0,5	2240	58	165	178	1	4,29	8-25
Doxylamin	0,2	1	1920	58	71	167	2	2,37	9-11
Duloxetine	0,12	0,24	2500	297	221	265	1	4	9-19
Enalapril	0,05	1 (-)*	2770	208	254	91	2	2,45	8-11
Ethosuximid**	100	150	1225	55	113	-	1	0,38	30-60
Etomidat	0,5	0,5 (-)*	1870	105	77	244	2	3,05	2,8-5
Felodipin	0,005	0,01	2670	238	210	150	1	3,86	22-27
Fentanyl	0,3	0,02 (-)*	2720	245	146	189	2	4,05	1-3,5
Flecainid	0,8	1	2520	84	97	301	2	3,78	10-20
Flumazenil	0,1	0,5	2660	229	257	303	3	1	1-2
Flunarizin	0,2	0,3	3135	201	117	183	2	5,78	-
Fluoxetin	0,5	1	1950	44	104	162	1	4,05	2-6
Flupentixol	0,01	0,015	3055	143	100	289	2	4,51	20-40
Fluphenazin	0,01	0,015	3050	70	280	143	3	4,36	10-18
Flupirtin	1,5	3	2880	109	304	231	4	2,66	7-11
Flurazepam	0,1	0,2	2780	86	99	387	3	3,02	2
Fluspirilen	0,002	0,004	2125	203	216	183	3	5,86	7-14
Fluvoxamin	0,25	0,5	1890	71	276	187	2	3,2	15-22
Formoterol**	-	-	1720	44	148	121	2	2,2	10
Gabapentin	6	85	1750	81	153	67	1	-1,1	5-9
Gallopamil	0,1	0,3 (-)*	3190	333	58	151	2	4,42	3-8
Haloperidol	0,02	0,05	2940	224	237	123	1	4,3	10-35
Hydrocodon	0,05	0,1	2440	299	242	96	1	2,16	4
Hydromorphon	0,015	0,1	2445	285	96	228	1	1,6	2-3
Ibuprofen	30	200	1615	161	163	91	0	3,97	2-3
Imipramin	0,35	0,5	2215	58	85	234	2	4,8	6-20
Isradipin	0,002	0,01	2680	210	252	150	3	4,28	5-10

Substanz	Cth, µg/ml	Ctox, µg/ml	R	1. m/z	2. m/z	3. m/z	N	log P	t _{1/2} , h
Ketamin	6	7	1835	180	209	102	1	3,12	1-3
Lamotrigin	14	20	2635	185	255	123	5	2,5	23-37
Lercanidipin	0,2 (-)*	1 (-)*	1940	167	165	-	3	6,4	-
Levetiracetam	40	400	1740	126	69	98	2	-0,6	4-10
Levomepromazin	0,025	0,4	2540	58	328	228	2	4,68	15-30
Lisinopril	0,07	0,5	3165	324	361	73	3	-1,22	12
Lorazepam	0,2	0,3	2440	75	239	274	2	2,39	10-40
Maprotilin	0,13	0,5	2390	58	203	189	1	4,52	20-60
Medazepam	0,5	0,6	2235	207	242	270	2	4,41	2-5
Melperon	0,1	0,2	1890	112	125	263	1	3,84	4-8
Memantin	0,15	0,3	1250	108	122	179	1	3,28	60-100
Methadon	0,5	0,2	2610	72	294	223	1	3,93	23-25
Methylphenidat	0,06	0,5	1740	84	56	91	1	0,2	2-7
Metoclopramid	0,15	0,2	2610	86	99	184	3	2,62	3-6
Metoprolol	0,5	0,65	2080	72	107	223	1	1,88	2,5-7,5
Mianserin	0,07	0,25	2210	193	72	264	2	3,52	14-33
Midazolam	0,1	1	2580	310	325	297	3	4,33	1,5-3
Mirtazapin	0,3	1	2250	195	208	180	3	2,9	20-40
Mitotan	20	20	2230	235	165	199	0	5,87	18-159
Moclobemid	1	2	2210	100	113	139	2	1,5	1-7
Morphin	0,1	0,1	2455	285	162	124	1	0,89	1-4
Naloxon	0,03	0,03 (-)*	2715	327	242	286	1	2,09	1,2
Nebivolol	0,02	0,48	3540	428	471	233	1	2,44	10
Nefopam	0,1	4	2035	58	179	165	1	3,05	3-8
Nifedipin	0,15	0,15	2575	329	284	224	2	2,2	2-5
Nilvadipin	0,01	0,02 (-)*	2800	221	263	342	3	2,97	11-20
Nimodipin	0,05	0,1 (-)*	2845	296	254	196	2	3,05	1-2
Nisoldipin	0,001	0,1 (-)*	2730	371	270	210	2	3,26	7-12
Nitrendipin	0,05	0,05 (-)*	2700	238	210	360	2	2,88	8-12
Nordiazepam	0,2	1,5	2520	242	269	270	2	2,93	40-80
Nortilidin	0,1	0,1 (-)*	1840	93	68	270	1	-	6
Nortriptylin	0,2	0,5	2255	44	202	220	1	4,74	18-56
O-Desmethylenlafaxin	0,4	1	2210	58	120	107	1	-	-
Olanzapin	0,08	0,15	2765	242	229	213	4	3,61	30-60
Opipramol	0,5	1	3055	363	206	218	3	3,41	6-12
Oxazepam	1,5	2	2320	77	268	205	2	2,24	6-20
Oxcarbazepin	35	45	2375	180	209	252	2	1,11	1-2,5
Oxycodon	0,1	0,2	2540	315	70	230	1	0,66	2-5
Paliperidon	0,06	0,12	-	-	-	-	4	1,8	23
Paracetamol	25	100	1780	109	151	80	1	0,46	2-4
Paroxetin	0,05	0,35	2850	70	192	109	1	3,95	16-24
Pentobarbital	5	10	1740	156	141	69	2	2,1	20-40
Perazin	0,35	0,5	2790	70	113	339	3	4	8-16
Perphenazin**	0,02	0,05	3360	70	143	246	3	4,2	8-12
Phenobarbital	10	30	1965	204	117	161	2	1,47	60-130
Phenprocoumon	3,6	5	2440	251	280	91	0	3,62	100-160
Phenytoin	15	20	2350	180	252	77	2	2,47	10-60

Substanz	C _{th} , µg/ml	C _{tox} , µg/ml	R	1. m/z	2. m/z	3. m/z	N	log P	t _{1/2} , h
Pipamperon	0,4	0,5	3040	165	123	138	3	2,02	17-22
Piracetam	20	20 (-)*	1520	98	70	84	2	-1,54	4,5-7
Piritramid	0,014	0,014 (-)*	3560	386	138	301	4	3,91	4-10
Pregabalin	5	10	1995	102	73	147	1	-1,35	6
Primidon	12	20	2260	190	146	117	2	0,91	4-12
Promethazin	0,2	1	2270	72	198	180	2	4,81	8-15
Propofol	8	8 (-)*	1320	163	178	117	0	3,79	3-8
Prothipendyl	0,01	0,1	2350	58	285	86	3	4,01	2-3
Quetiapin	0,5	1,8	3280	210	239	144	3	2,8	5-7
Quinapril	0,05 (-)*	0,1 (-)*	3105	234	91	160	2	3,72	2
Ramipril	0,01	0,1 (-)*	2920	234	91	-	2	3,32	1-5
Reboxetin	0,35	0,7	2375	175	56	176	1	3,1	12-14
Risperidon	0,006	0,12	-	-	-	-	4	3,49	2-4
Rivastigmin	0,02	0,04	1740	72	58	235	2	2,3	1-2
Salmeterol	0,1 (-)*	1 (-)*	-	-	-	-	1	4,2	5,5
Sertralin	0,25	0,3	2260	274	159	262	1	5,29	24-48
Sildenafil	0,5	1,5 (-)*	3400	99	56	404	6	1,9	3-5
Sulpirid	0,4	1	2295	98	70	135	3	0,57	4-11
Sultiam	10	12	3000	290	184	168	2	0,98	3-30
Tapentadol	0,13	0,3	1650	58	221	107	1	2,87	3-5
Tetrazepam	0,6	0,6 (-)*	2400	253	288	259	2	3,2	16-44
Theophyllin	15	20	2025	180	95	68	4	-0,02	6-9
Thiopental	5	7	1855	172	157	173	2	2,85	3-8
Tiaprid	2	4	2820	86	213	134	2	0,9	3-4
Timolol	0,05	1 (-)*	2265	86	130	114	4	1,83	2-6
Topiramat	10	10 (16)*	2240	324	59	110	1	-0,7	20-30
Tramadol	1	1	1945	58	263	135	1	3,01	5-10
Tranlycypromin	0,05	0,1	1230	132	133	56	1	1,58	1-3,5
Trazodon	1	1,2	3345	205	70	278	5	3,21	4-11
Trimipramin	0,25	0,5	2225	58	249	193	2	5,43	10-20
Valproinsäure	100	150	1150	73	102	115	0	2,75	8-20
Venlafaxin	0,4	1	2055	58	134	91	1	2,69	3-7
Verapamil	0,25	1	3150	303	58	151	2	3,79	6-14
Zolpidem	0,2	0,5	2715	235	307	65	3	3,85	2-3
Zopiclon	0,2	0,5	2950	143	245	99	6	1,54	3,5-8
Zuclopenthixol	0,1	0,1	3360	143	70	100	2	4,46	15-25

Die dargestellte Tabelle führt alle in diese Arbeit eingeschlossenen Substanzen mit den obersten therapeutischen Konzentrationen (C_{th})³⁹, den niedrigsten toxischen Konzentrationen (C_{tox})³⁹, den Retentionsindizes (R)²⁷, den drei Hauptmassen (1. m/z, 2. m/z, 3. m/z)²⁷, den Anzahlen der Stickstoffatome (N), den Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (log P)⁴³ und den Halbwertszeiten (t_{1/2})⁴³ auf.

* Die in Klammern angegebene Werte sind die Konzentrationen nach Schulz et. al. Die vor den Klammern angegebenen Werte sind die getesteten Konzentrationen.

** Aufgrund der mangelnden Verfügbarkeit von Amitriptylinoxid, Amlodipin, Baclofen, Benazepril, Brotizolam, Bupropion, Ethosuximid, Formoterol und Perphenazin als analytische Standards wurden diese Substanzen nur in Analysen über GC/MSD im TIC- und SIM-Modus bei Konzentrationen von 5 µg/ml bzw. 25 µg/ml verwendet.

° Dimethoat verfügt als einzige, getestete Substanz über ein Stickstoff- und ein Phosphoratom.

3. D Methoden

3. D I Zusammenstellung des basischen Puffers, LÖMI und IST

Zur Erstellung des basischen Puffers wurden 5,4 g Natriumhydrogencarbonat und 1,7 g Natriumcarbonat in 100 ml Wasser gelöst. Anschließend wurde der pH = 9,3 mit 10 M Natriumhydroxid eingestellt.⁴⁴

Als Lösungsmittelgemisch (*LÖMI*) zur Extraktion wurde eine Mischung von 200 ml Chloroform, 150 ml Acentonitril und 100 ml Essigsäureethylester verwendet.

Als interner Standard (*IST*) wurde eine methanolische 1:200-Verdünnung einer kommerziell erhältlichen Mepivacain-Lösung (20 mg/ml) verwendet.

3. D II Zusammenstellung der in Methanol gelösten Substanzgemische

Zur Bestimmung der Erkennbarkeit der in Methanol gelösten Substanzen über GC/MSD wurden Substanzgemische von bis zu 10 Substanzen in aufsteigender Reihenfolge bezüglich ihrer Retentionsindizes mit jeweils 5 µg/ml bzw. 25 µg/ml pro Einzelsubstanz aus 10-fach konzentrierten Stammlösungen erstellt. Anschließend wurden die Substanzgemische für 5 Minuten auf dem Eppendorf-Rüttler bei höchster Stufe durchmischt. Mit einer Mikroliterspritze wurden 60 µl in ein mit einem Mikroinsatz bestücktes Glasvial überführt und zugebördelt.

Zur Bestimmung der Erkennbarkeit aus in Methanol gelösten Substanzen bei oberster therapeutischer bzw. niedrigster toxischer Konzentration über GC/MSD und GC/NPD wurden Substanzgemische von bis zu 5 Substanzen erstellt. Hierfür wurden für jede Substanz zwei Konzentrationen erstellt, welche 100-fach höher als die in der Tabelle 2 angegebenen obersten therapeutischen bzw. niedrigsten toxischen Konzentrationen waren. 900 µl Methanol und 50 µl IST wurden in ein Eppendorf-Tube pipettiert. Anschließend wurden 10 µl von bis zu 5 in alphabetischer Reihenfolge geordnete Substanzen in das Eppendorf-Tube überführt. Bei Substanzgemischen von weniger als 5 Substanzen wurde Methanol zugegeben, sodass sich 1000 µl Volumen im Tube befinden. Anschließend wurden die Substanzgemische für 5 Minuten auf dem Eppendorf-Rüttler bei höchster Stufe durchmischt. Mit einer Mikroliterspritze wurden 60 µl in ein mit einem Mikroinsatz bestücktes Glasvial überführt und zugebördelt.

3. D III Zusammenstellung der aus Plasma extrahierten Substanzgemische

Zur Bestimmung der Erkennbarkeit der aus Plasma extrahierten Substanzen bei oberster therapeutischer bzw. niedrigster toxischer Konzentration über GC/MSD und GC/NPD wurde ein Verfahren in Anlehnung an Maurer et. al. verwendet.²⁷ Hierbei wurden für jede Substanz zwei Konzentrationen erstellt, welche 100-fach höher als die in Tabelle 2 angegebenen obersten therapeutischen bzw. niedrigsten toxischen Konzentrationen waren. 900 µl Plasma und 50 µl IST wurden in ein Eppendorf-Tube pipettiert. Anschließend wurden 10 µl von bis zu 5 Substanzen der 100fach-Konzentrate in alphabetischer Reihenfolge geordnet in das Eppendorf-Tube überführt. Bei Substanzgemischen von weniger als 5 Substanzen wurde entsprechend reines Methanol zugegeben. Anschließend wurden die Substanzgemische für 5 Minuten auf dem Eppendorf-Rüttler bei höchster Stufe durchmischt. 200 µl basischer Puffer und 200 µl LÖMI wurden hinzugefügt. Daraufhin wurden die Gemische für weitere 5 Minuten auf dem Eppendorf-Rüttler bei höchster Stufe durchmischt und für 5 Minuten bei 14.000 U/min zentrifugiert. Die obere, anorganische Phase wurde abpipettiert und verworfen. Eine Mikroliterspritze wurde durch das sich gebildete Proteinpellet in die untere, organische Phase geführt und das gewonnene Volumen der organischen Phase in ein mit einem Mikroeinglass bestücktes Glasvial überführt und zugebördelt.

3. D IV Konfiguration des GC/MSD

Zur Kontrolle der chromatographischen Eigenschaften der GC-Einheit und der Detektionseigenschaften der MSD-Einheit wurde die Performance täglich mit Hilfe einer Kontrolllösung überprüft und gegebenenfalls kalibriert. Die dabei verwendete Lösung setzte sich aus Amantadin, Biperiden, Clomipramin, Clozapin, Clobazam, Diphenhydramin, IST, Nikotin, Olanzapin, Pethidin, Pipamperon, Tramadol, Trimipramin und Verapamil zusammen. Die Konzentration von Amantadin lag bei 22,5 µg/ml, die von Pipamperon bei 25 µg/ml; alle weiteren Substanzen waren in einer Konzentration von 10 µg/ml enthalten.

Die zu analysierenden Substanzgemische wurden zunächst wie unter 3. D II und 3. D III beschrieben vorbereitet und in den Revolver des GC/MSD überführt. Als Trägergas wurde Helium bei einem Druck von 105,96 kPa verwendet. Die Injektortemperatur

betrug 280 °C, die Detektortemperatur lag für die Ionenquelle bei 230 °C bzw. am Analysator bei 150 °C. Vom Substanzgemisch wurde 1 µl über den Liner in einem Verhältnis von 7,34 : 1 mit $v = 300 \mu\text{l/min}$ im Split-Modus injiziert. Der Ofen wies das in Abbildung 7 dargestellte Temperaturprofil auf.

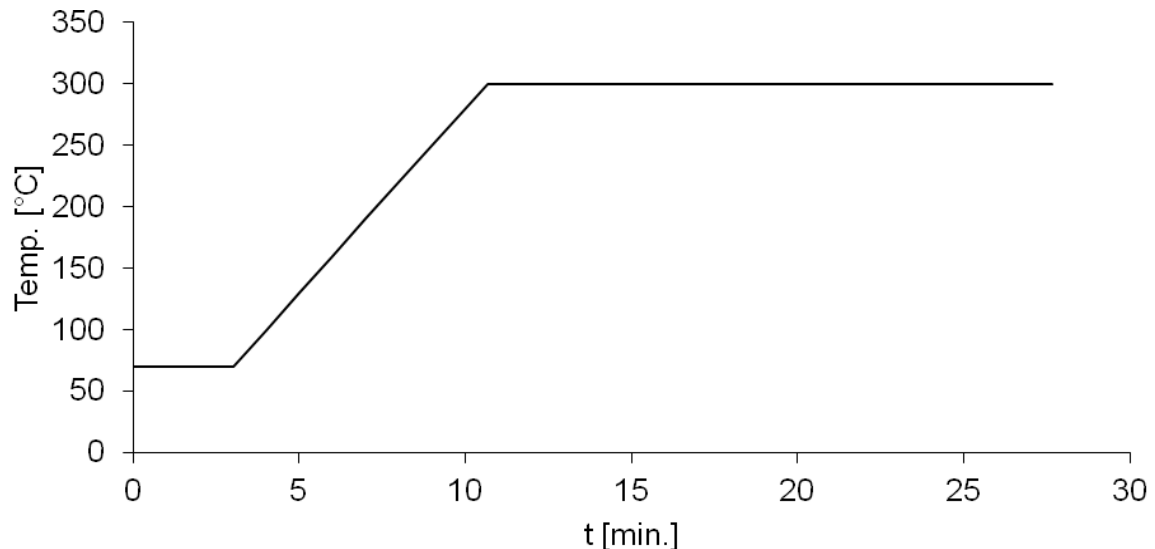


Abbildung 7

Temperaturprofil des GC-Ofens

Nach initial 70 °C über einen Zeitraum von 3 Minuten wird die Temperatur des GC-Ofens kontinuierlich um 30 °C/min erhöht. Nach einer Gesamtzeit von 10,66 Minuten wurde das Temperaturmaximum von 300 °C erreicht, welches für weitere 15 Minuten konstant gehalten wurde.

Das Trägergas wurde als konstanter Volumenstrom von 0,8 ml/min eingeleitet. Die zu erfassenden Massen wurden im TIC-Modus auf zwischen 40 und 500 Da begrenzt und ein *electron-multiplying-modus* von 25 („gain factor“) eingestellt. Für Untersuchungen im SIM-Modus wurden die jeweiligen Hauptmassen ergänzt, sodass der MSD bei diesen Untersuchungen den TIC/SIM-Modus aufwies.

3. D V Auswertung der Analyseergebnisse über GC/MSD

Die über GC/MSD registrierten Zählereignisse wurden als elektrische Signale an das Programm *MS Hunter GC/MS Acquisition (Ver. B.07.03.2129, 18-May-2015)* eines Computers übertragen. Die so erstellten Chromatogramme (Abbildung 8) wurden über das Programm *MSD ChemStation (Ver. F.01.03.2357)*, welchem die Bibliothek *Maurer, Pfleger, Weber 2011*²⁷ angeknüpft wurde, an einem Computer ausgewertet. Hierfür wurden die integrierten Peaks um die Hintergrundspektren korrigiert und die resultierenden Massenspektren mit den Einträgen der Bibliothek abgeglichen. Außerdem wurden die individuellen Hauptmassen zur Substanzerkennung überprüft (Abbildung 9).

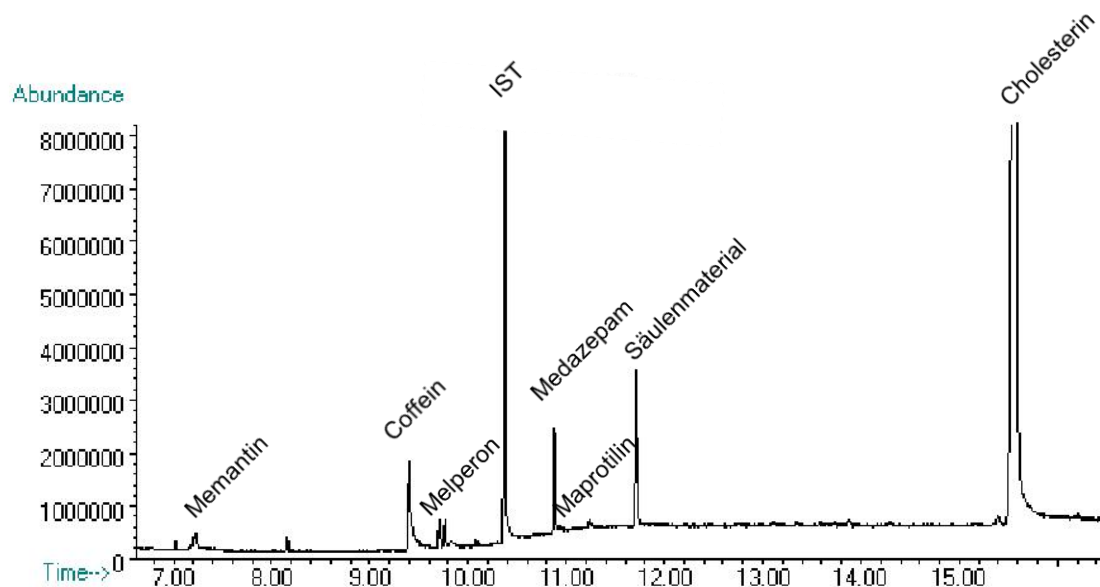


Abbildung 8

GC/MSD Chromatogramm bei niedrigster toxischer Konzentration einer aus Plasma extrahierten Probe mit Maprotilin, Medazepam, Melperon und Memantin (dargestellt durch *MSD ChemStation C 00.07. HP 1989-1992*)

Durch Integration der Peaks im Chromatogramm mit Korrektur des Hintergrundspektrums wurden die jeweiligen Signale mit Hilfe der Bibliothek *Maurer, Pfleger, Weber 2011* den zu analysierenden Substanzen zugeordnet.

Zu erkennen ist, dass außer den aufdotierten Substanzen Peaks für Coffein und Cholesterin, welche im Plasma vorhanden waren, erkannt wurden. Darüber hinaus wurde von der Chromatographiesäule stammendes Säulenmaterial erkannt.

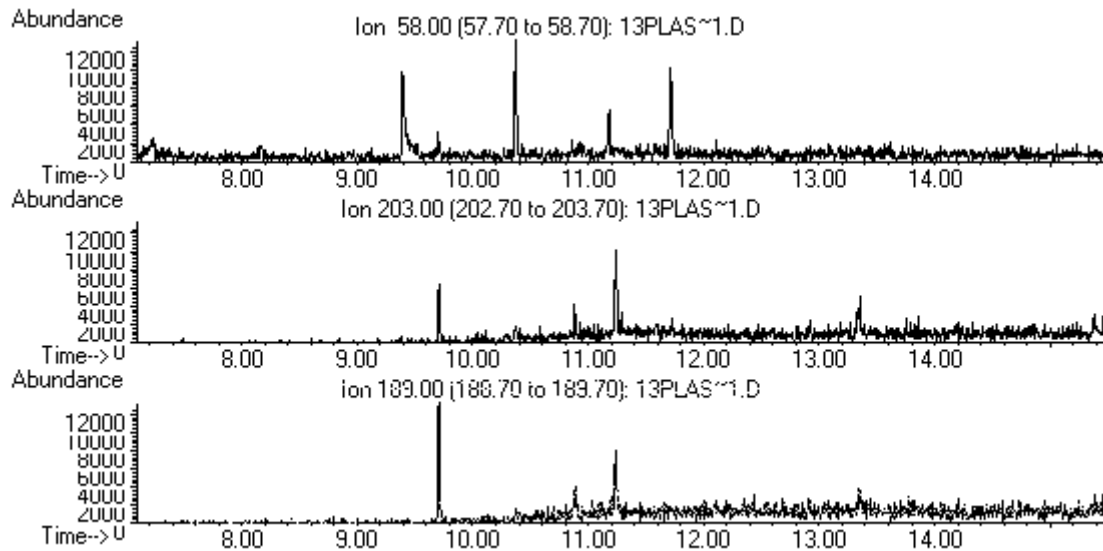


Abbildung 9

GC/MSD Chromatogramm der Hauptmassen Maprotilins bei niedrigster toxischer Konzentration einer aus Plasma extrahierten Probe (dargestellt durch *MSD ChemStation C 00.07. HP 1989-1992*)

Zur Identifikation der Substanzen wurden die Chromatogramme hinsichtlich der individuellen Hauptmassen analysiert. Maprotilin wurden zum Zeitpunkt 11,23 min erkannt.

3. D VI Konfiguration des GC/NPD

Zur Kontrolle der chromatographischen Eigenschaften der GC-Einheit und der Detektionseigenschaften der NPD-Einheit wurde die Performance vor jeder Analysereihe mit Hilfe einer Kontrolle durch den IST überprüft und gegebenenfalls kalibriert. Beurteilt wurden die Retentionszeit, die Intensität und die Form des Peaks im Chromatogramm. Die Gase H_2 , Druckluft und N_2 , sowie die Multiplexverstärkung wurden jeweils individuell an die aktuelle Geräteperformance angepasst.

Die zu analysierenden Substanzgemische wurden zunächst wie unter 3. D II und 3. D III beschrieben vorbereitet und in den Revolver des GC/NPD überführt. Die Einstellungen des Injektors, des Trägergases und des Temperaturprogrammes waren identisch zu den Einstellungen unter 3. D IV.

3. D VII Auswertung der Analyseergebnisse über GC/NPD

Die über GC/NPD registrierten Signale wurden als elektrische Informationen an das Programm *GC ChemStation (Ver. Rev. A. 08.03 [847])* eines Computers übertragen und ausgewertet. Hierfür wurden die Retentionszeit des IST, sowie Coffein und die Retentionsindizes der zu analysierenden Substanzen einbezogen (Abbildung 10). Außerdem wurden die Signalintensitäten der in Methanol gelösten und der aus Plasma extrahierten Substanzen bei oberster therapeutischer Konzentration mit den Signalintensitäten der in Methanol gelösten und aus Plasma extrahierten Substanzen bei niedrigster toxischer Konzentration verglichen. Durch diese Parameter wurde den Peaks im Chromatogramm die jeweilige Substanz zugeordnet.

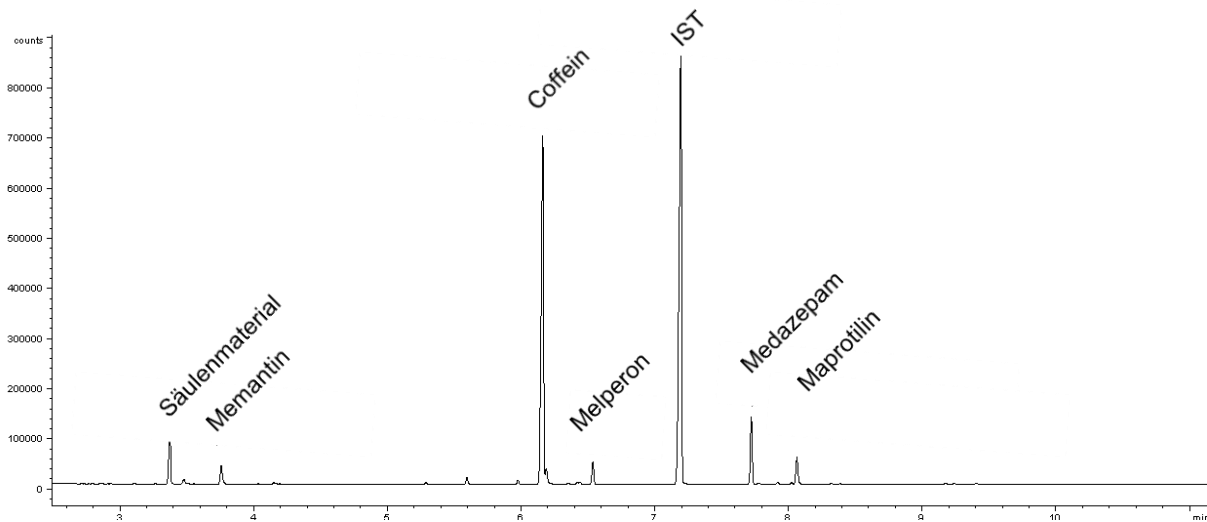


Abbildung 10

GC/NPD Chromatogramm bei niedrigster toxischer Konzentration für eine aus Plasma extrahierte Probe von Maprotilin, Medazepam, Melperon und Memantin (dargestellt durch *GC ChemStation Rev. A. 10.02. [1757]*)

Der IST wies eine Retentionszeit von 7,19 min auf. Coffein wies eine Retentionszeit von 6,18 min auf. Unter Einbeziehung der Retentionsindizes und der unterschiedlichen Signalstärken der Lösungsmittelgemische in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration der Substanzen, wurden die korrespondierenden Peaks und Substanzen ermittelt. Cholesterin wurde im Plasma nicht registriert.

4. Ergebnisse

4. A Analyse von 154 in Methanol gelösten Substanzen über GC/MSD

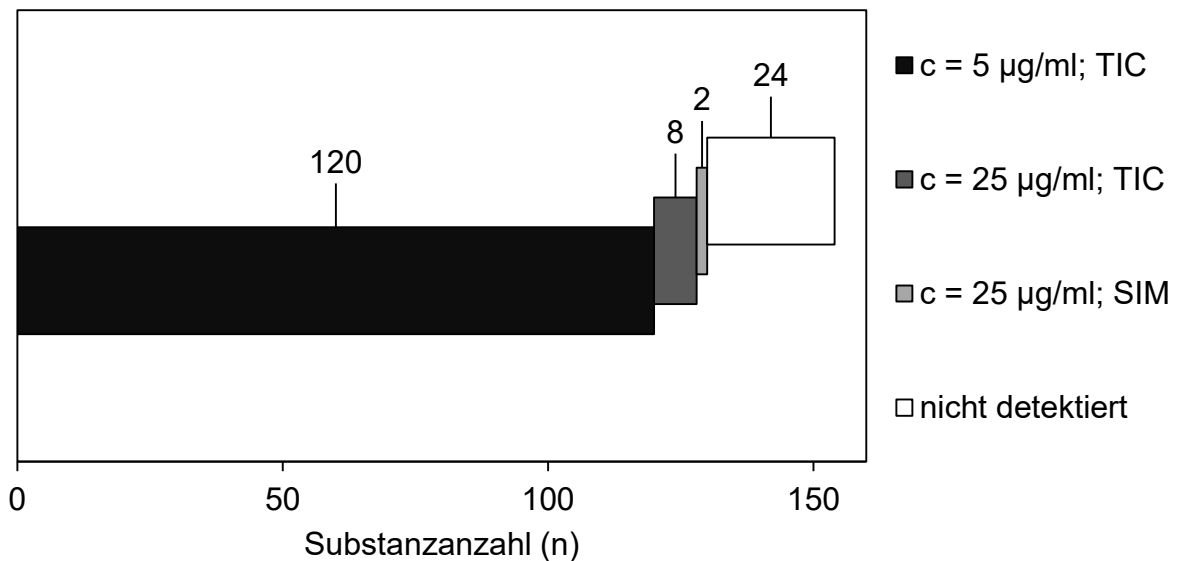


Abbildung 11

GC/MSD Erkennbarkeit von 154 in Methanol gelösten Substanzen in zwei verschiedenen Konzentrationen durch TIC oder SIM über GC/MSD

154 Substanzen wurden auf ihre Erkennbarkeit über GC/MSD bei 5 µg/ml oder 25 µg/ml getestet. Rund 84% der getesteten Substanzen konnten erkannt werden.

Anfänglich wurden 154 Substanzen hinsichtlich ihrer Erkennbarkeit über GC/MSD getestet. Als Konzentration wurden 5 µg/ml gewählt. Die Substanzgemische wurden im TIC-Modus über GC/MSD analysiert. Hierbei wurden insgesamt 120 Substanzen eindeutig detektiert. 34 Substanzen wurde nicht oder nicht eindeutig detektiert.

Diese 34 Substanzen wurden als Gemische von bis zu 5 Substanzen in Methanol gelöst und bei einer Konzentration von 25 µg/ml analysiert. Die 7 entsprechenden Substanzgemische wurden im TIC-Modus über GC/MSD analysiert. Hierbei wurden Captopril, Enalapril, Flupirtin und Sultiam sicher detektiert. Außerdem wurden Fluvoxamin, Lorazepam, Paracetamol und Tiaprid, welche bei 5 µg/ml im Peak einer stärkeren Signal erzeugenden Substanz koeluierten, sicher detektiert. 26 Substanzen wurden nicht detektiert. Diese 26 Substanzen wurden einzeln in Methanol bei 25 µg/ml gelöst und im SIM-Modus über GC/MSD analysiert. Hierbei wurden Atenolol und Trazodon sicher detektiert. Die übrigen 24 Substanzen wurden bei bis zu 25 µg/ml über GC/MSD nicht detektiert (Abbildung 11 und Tabelle 3).

Tabelle 3**Substanznachweise über GC/MSD bei 25 µg/ml im TIC- bzw. SIM-Modus**

	identifiziert im TIC-Modus	identifiziert im SIM-Modus	nicht identifiziert im SIM-Modus	
Substanzen	Captopril	Atenolol Trazodon	Amlodipin	Paliperidon
	Enalapril		Aripiprazol	Perphenazin
	Flupirtin		Benazepril	Piracetam
	Fluvoxamin		Benperidol	Pregabalin
	Lorazepam		Bupropion	Quinapril
	Paracetamol		Buspiron	Reboxetin
	Sultiam		Fluspirilen	Risperidon
	Tiaprid		Formoterol	Salmeterol
			Lisinopril	Sildenafil
			Naloxon	Sulpirid
			Nebivolol	Tranlycypromin
			Nitrendipin	Zuclopenthixol

Die Tabelle zeigt die Substanzen, welche bei 25 µg/ml im TIC- bzw. SIM-Modus über GC/MSD identifiziert bzw. nicht identifiziert wurden.

4. B Analyse von 145 in Methanol gelösten Substanzen bei oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentration durch GC/MSD und GC/NPD

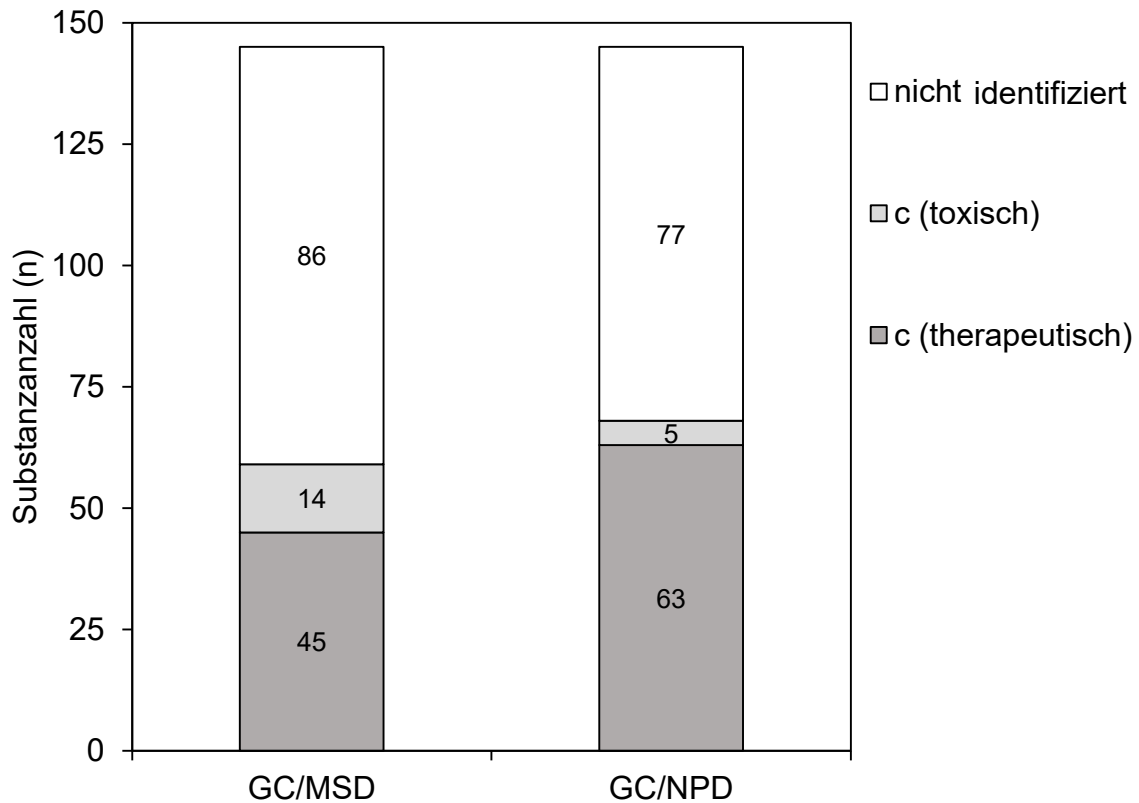


Abbildung 12

Erkennbarkeit von 145 in Methanol gelösten Substanzen in oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentrationen über GC/MSD und GC/NPD

145 Substanzen wurden in Methanol gelöst und auf oberste therapeutische (c (therapeutisch)) bzw. niedrigste toxische (c (toxisch)) Konzentration (siehe Tabelle 2) verdünnt. Anschließend wurde jede Probe über GC/MSD und GC/NPD hinsichtlich der Erkennbarkeit analysiert.

145 in Methanol gelöste Substanzen wurden bezüglich ihrer Erkennbarkeit in oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentration über GC/MSD bzw. GC/NPD getestet. Von 145 in Methanol gelösten Substanzen wurden bei höchster therapeutischer Konzentration 18 Substanzen (ca. 12%) mehr über GC/NPD als über GC/MSD detektiert. Entsprechend wurden bei niedrigster toxischer Konzentration 9 Substanzen (ca. 6%) über GC/MSD nicht identifiziert, aber über GC/NPD (Abbildung 12).

4. C Analyse von 145 aus Plasma extrahierten Substanzen bei oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentration durch GC/MSD und GC/NPD

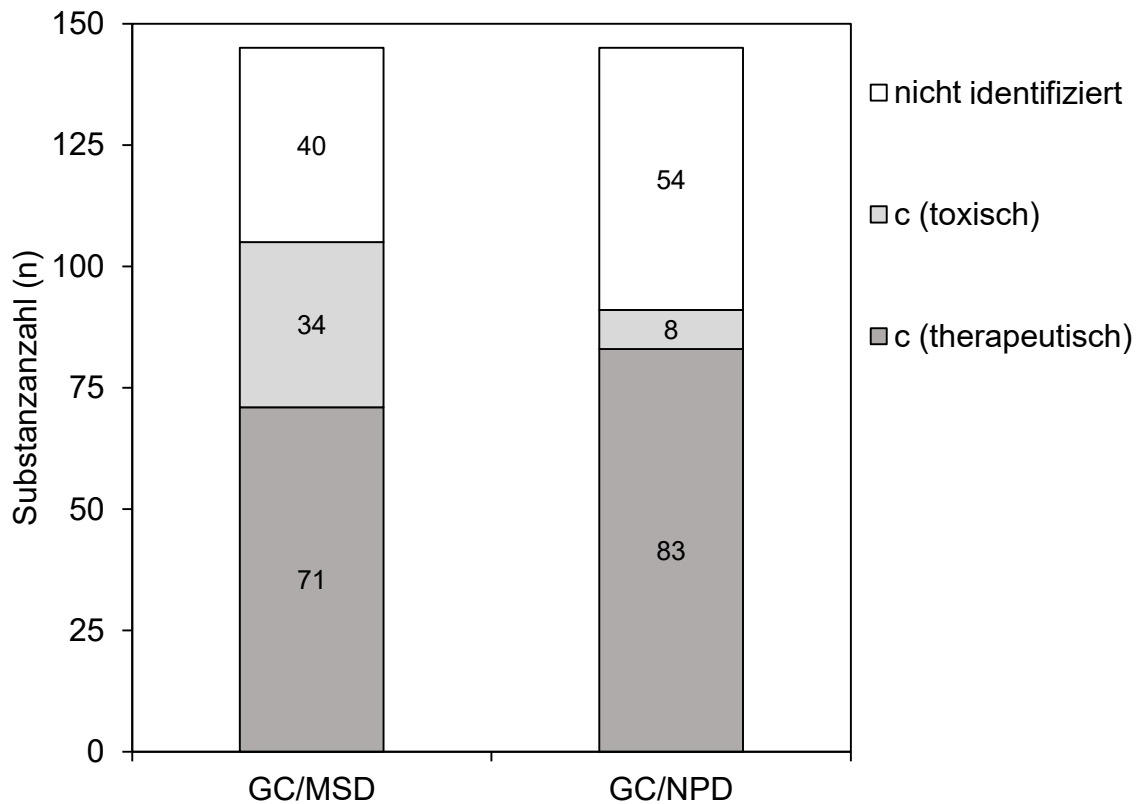


Abbildung 13

Erkennbarkeit von 145 aus Plasma extrahierten Substanzen in oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentrationen über GC/MSD und GC/NPD

145 Substanzen wurden aus Plasma extrahiert. Hierzu wurden Plasmaproben mit den entsprechenden Konzentrationen (siehe Tabelle 2) aufdotiert und die Extrakte über GC/MSD und GC/NPD analysiert.

145 aus Plasma extrahierte Substanzen wurden hinsichtlich ihrer Erkennbarkeit in oberster therapeutischer und niedrigster toxischer Konzentration über GC/MSD bzw. GC/NPD getestet. Von diesen 145 Substanzen wurden bei höchster therapeutischer Konzentration 12 Substanzen (ca. 8%) mehr über GC/NPD als über GC/MSD detektiert. Dagegen wurden bei niedrigster toxischer Konzentration 14 Substanzen (ca. 10%) über GC/NPD nicht identifiziert, aber über GC/MSD.

4. D Anreicherungsfaktoren bei Analytik über GC/MSD

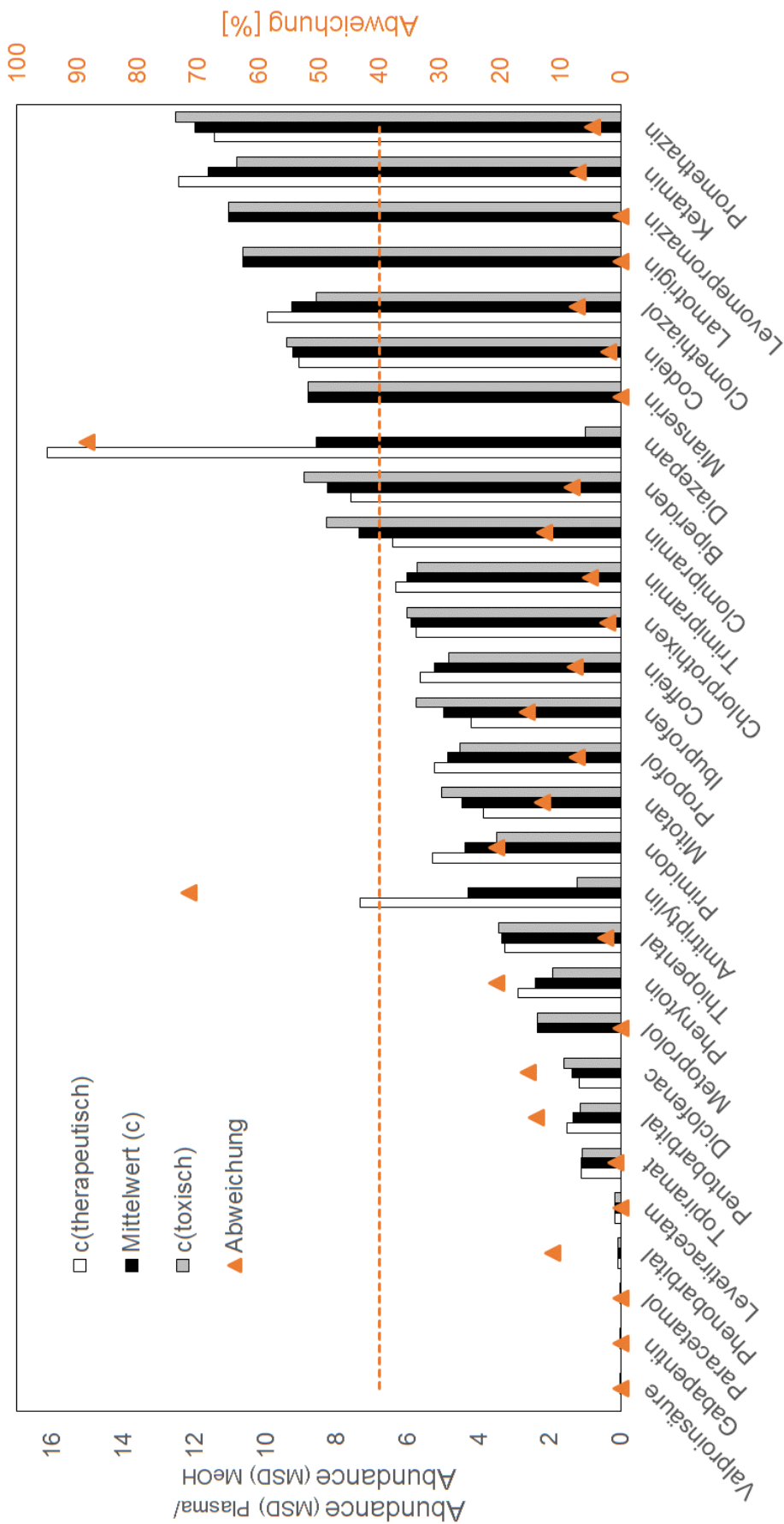


Abbildung 14a
Ermittlung der Anreicherungsfaktoren über GC/MSD
Erläuterung siehe Abbildung 14b

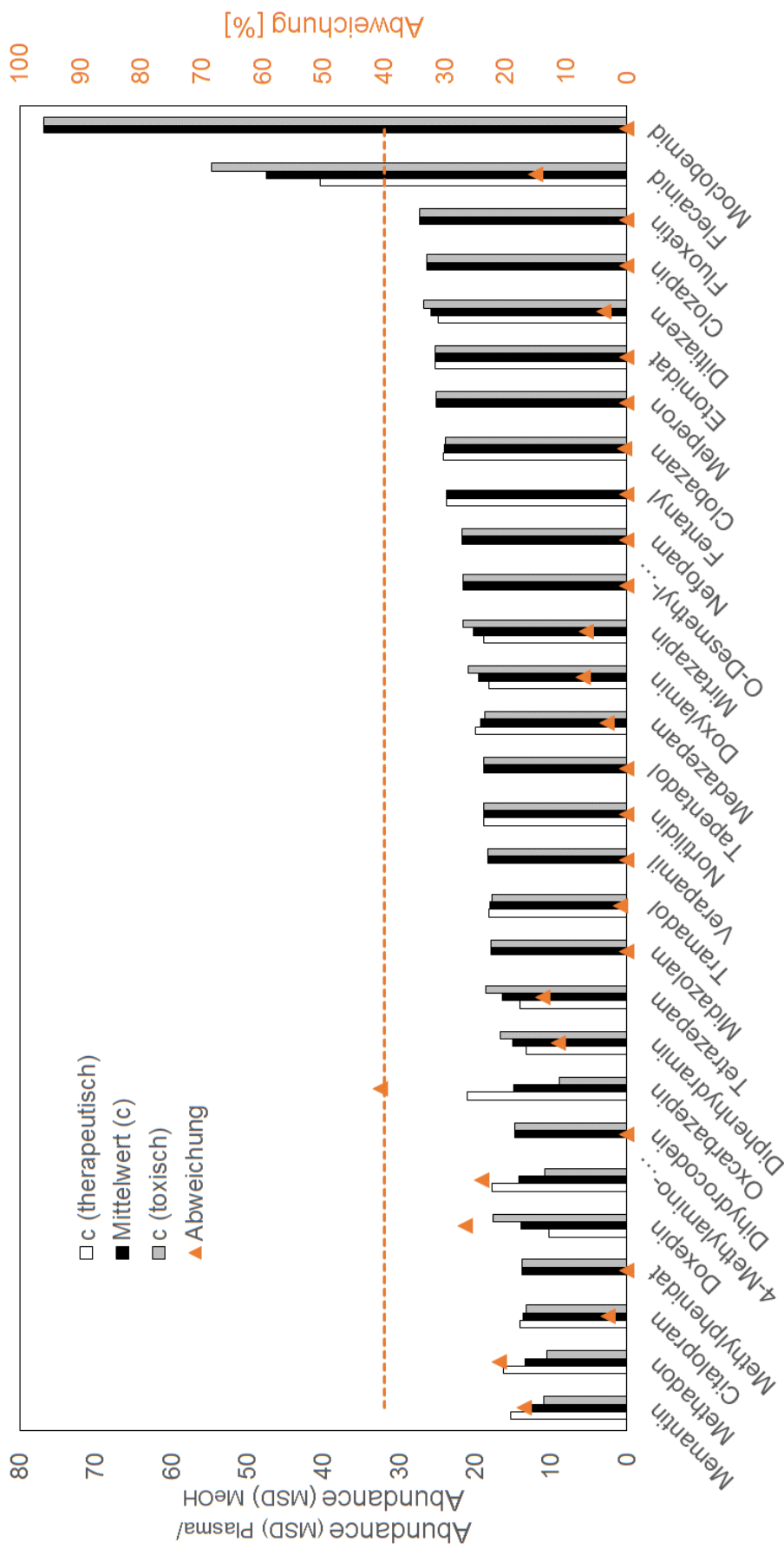


Abbildung 14b
Ermittlung der Anreicherungs-faktoren über GC/MSD
Der Quotient der über GC/MSD analysierten Abundance für aus Plasma extrahierte Substanzen und in Methanol gelöste Substanzen wurde ermittelt. Dargestellt sind die Quotienten bei oberster therapeutischer (c (therapeutisch)) und niedrigster toxischer (c (toxisch)) Konzentrationen, sowie deren Mittelwert. Die Substanzen wurden nach aufsteigendem Mittelwert angeordnet. (linke Ordinatenachse)
Die Abweichung der Quotienten vom Mittelwert wurde ermittelt und dargestellt. Der Cutoff der Abweichung beträgt 40%. (rechte Ordinatenachse)

Für jede Substanz, welche sowohl in Methanol gelöst als auch aus Plasma extrahiert über GC/MSD detektiert wurde, wurde der entsprechende Anreicherungsfaktor als Quotient der Abundance erstellt. Für 58 Substanzen konnte ein Anreicherungsfaktor ermittelt werden. Hierbei wurde die ermittelte Abundance einer Substanz für oberste therapeutische Konzentration und niedrigste toxische Konzentration einzeln betrachtet. Bei 17 Substanzen war die Ermittlung des Anreicherungsfaktors bei oberster therapeutischer Konzentration nicht möglich, da entweder nur bei in Methanol gelöster Substanz oder nur bei aus Plasma extrahierter Substanz eine Identifikation über GC/MSD stattfand (Tabelle 4).

Tabelle 4

Substanzen ohne ermittelbaren Anreicherungsfaktor bei oberster therapeutischer Konzentration über GC/MSD

alleinige Identifikation bei in Methanol gelöster Analyse	alleinige Identifikation bei aus Plasma extrahierter Analyse
Gabapentin	Dihydrocodein Mianserin
Paracetamol	Fluoxetin Midazolam
Valproinsäure	Lamotrigin Moclobemid
	Levomepromazin Nefopam
	Melperon O-Desmethyl-
	Methylphenidat Venlafaxin
	Metoprolol Tapentadol
	Verapamil

Die Tabelle zeigt die Substanzen, welche bei oberster therapeutischer Konzentration nur in Methanol gelöst bzw. nur aus Plasma extrahiert über GC/MSD identifiziert wurden und somit kein Anreicherungsfaktor bestimmt werden konnte. Die Substanzen sind in alphabetischer Ordnung dargestellt.

Bei niedrigster toxischer Konzentration konnte nur für Fentanyl bei 0,02 µg/ml (siehe Tabelle 2) kein Anreicherungsfaktor ermittelt werden, da in Methanol gelöstes Fentanyl nicht detektiert wurde. Bei oberster therapeutischer Konzentration für Fentanyl von 0,3 µg/ml (siehe Tabelle 2) konnte ein Anreicherungsfaktor ermittelt werden.

Aus den beiden ermittelten Anreicherungsfaktoren einer Substanz wurde der Mittelwert (\bar{x}) berechnet, bei den 18 o.g. Substanzen ausschließlich der jeweilige Einzelwert.

Zudem wurde die mittlere relative Abweichung (D) der Anreicherungsfaktoren vom Mittelwert einer Substanz ermittelt (Gleichung 1).

$$D = \frac{\left| \frac{\text{Anreicherungsfaktor (toxisch)}}{\bar{x}} \right|}{\text{Anreicherungsfaktor (toxisch)}} \times 100 [\%]$$

bzw.

$$D = \frac{\left| \frac{\text{Anreicherungsfaktor (therapeutisch)}}{\bar{x}} \right|}{\text{Anreicherungsfaktor (therapeutisch)}} \times 100 [\%]$$

Gleichung 1

Berechnung der mittleren relativen Abweichung (D)

Als Cutoff für die Abweichung wurde analog den meist zulässigen Fehlerbereichen nach der Richtlinie der Bundesärztekammer für quantifizierende Laboratorien, eine Abweichung von $\pm 20 \%$ gesetzt.^{45,46} Da es sich um die Abweichung von einem Mittelwert handelt, ist eine Abweichung von 40% zulässig. Amitriptylin und Diazepam wiesen eine Abweichung $> 40\%$ auf. In Abbildung 14 a/b wurden die Anreicherungsfaktoren, die Mittelwerte und die mittleren relativen Abweichungen für über GC/MSD detektierte Substanzen bei oberster therapeutischer Konzentration und niedrigster toxischer Konzentration dargestellt. Hierbei wurden die Substanzen nach aufsteigendem Mittelwert sortiert.

4. E Anreicherung durch Extraktion am Beispiel von Clobazam bei GC/MSD

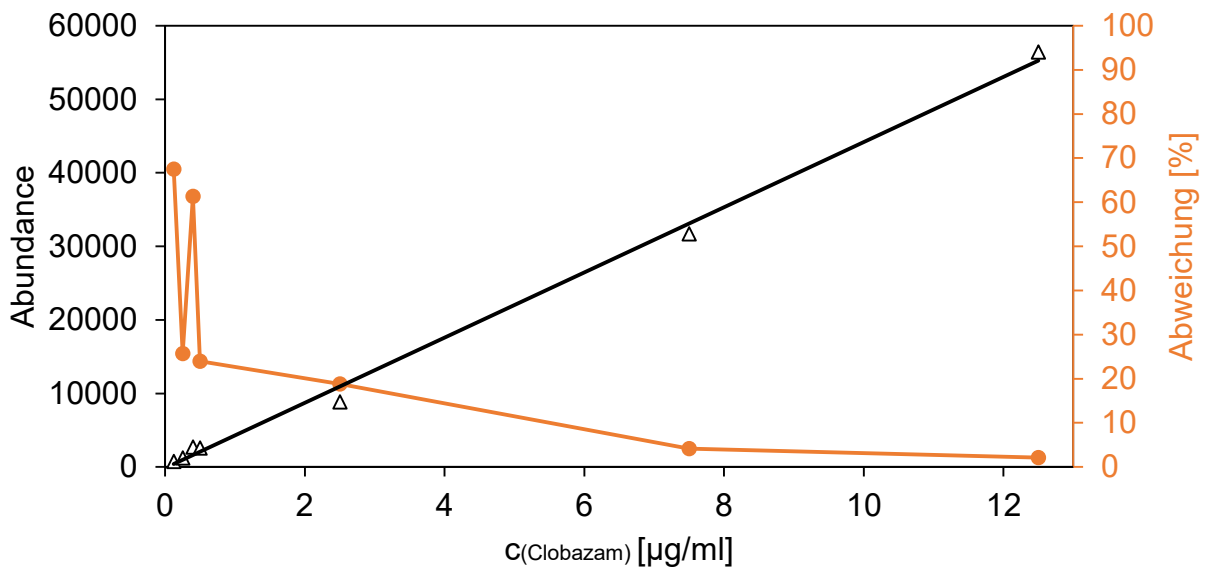


Abbildung 15

Konzentrationsreihe von Clobazam und relative Abweichung der Abundance von einem angenommenen linearen Verlauf über GC/MSD

Auf der linken Ordinatenachse wurde die über GC/MSD ermittelte Abundance für in Methanol gelöstes Clobazam der Konzentrationen 0,125 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,4 µg/ml, 0,5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 7,5 µg/ml und 12,5 µg/ml aufgetragen (Dreiecke). Die rechte Ordianatenachse stellt die relative Abweichung des experimentell bestimmten Wertes vom linearen Verlauf dar (Punkte).

Es wurde eine aufsteigende Konzentrationsreihe von in Methanol gelöstem Clobazam von 0,125 µg/ml bis 12,5 µg/ml erstellt, die entsprechenden Abundance-Werte für eine GC/MSD Detektion ermittelt und zur korrespondierenden Konzentration dargestellt (Abbildung 15). Es zeigte sich über zwei Zehnerpotenzen ein Anstieg im Verlauf der Abundance-Werte für steigende Konzentrationen. Die relative Abweichung der experimentell ermittelten Abundance von einem linearen Zusammenhang zwischen Abundance und Konzentration wurde ermittelt. Diese relative Abweichung wurde in Abbildung 15 auf der rechten Ordinatenachse dargestellt. Im Bereich $\leq 0,5$ µg/ml wurden Abweichungen über 60% ermittelt.

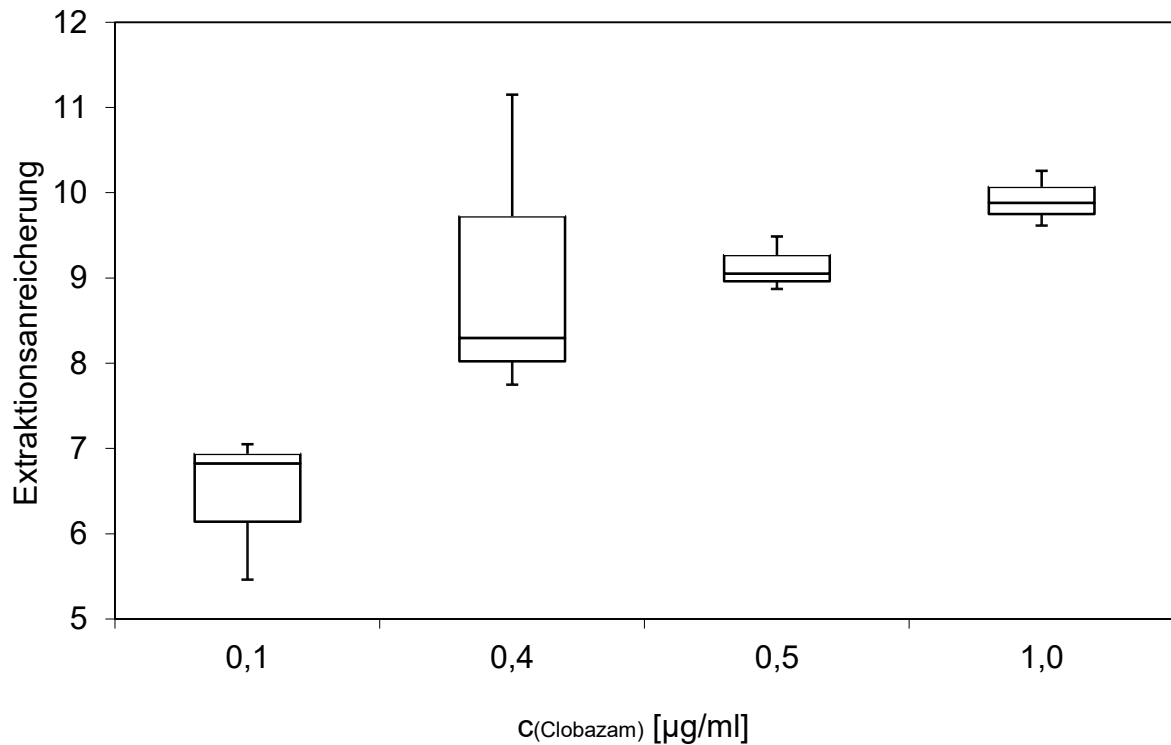


Abbildung 16

Extraktionsanreicherung von aus Plasma extrahiertem Clobazam über GC/MSD

Für die dargestellten Konzentrationen von 0,1 µg/ml bis 1,0 µg/ml wurden die Abundance-Werte für aus Plasma extrahiertem Clobazam bei GC/MSD-Analytik ermittelt. Aufgetragen sind die errechneten Extraktionsfaktoren für den in Abbildung 15 dargestellten Zusammenhang zwischen Konzentration und Abundance.

Clobazam wurde in den in Abbildung 16 aufgeführten Konzentrationen aus Plasma extrahiert. Die ermittelte Abundance wurde mit der in Abbildung 15 dargestellten Abundance der Konzentrationsreihe von in Methanol gelöstem Clobazam ins Verhältnis gesetzt. Die so ermittelte Extraktionsanreicherung wurde in Abbildung 16 dargestellt. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Konzentration an Clobazam und dem Median des Anreicherungsfaktors über GC/MSD. Demnach steigt die ermittelte Extraktionsanreicherung im Median von 6,9 auf 9,9 an. Außerdem wurde ermittelt, dass die Varianz der Extraktionsanreicherung für die Konzentrationen 0,1 µg/ml und 0,4 µg/ml größer war als für die Konzentrationen 0,5 µg/ml und 1,0 µg/ml.

4. F Anreicherungsfaktoren bei Analytik über GC/NPD

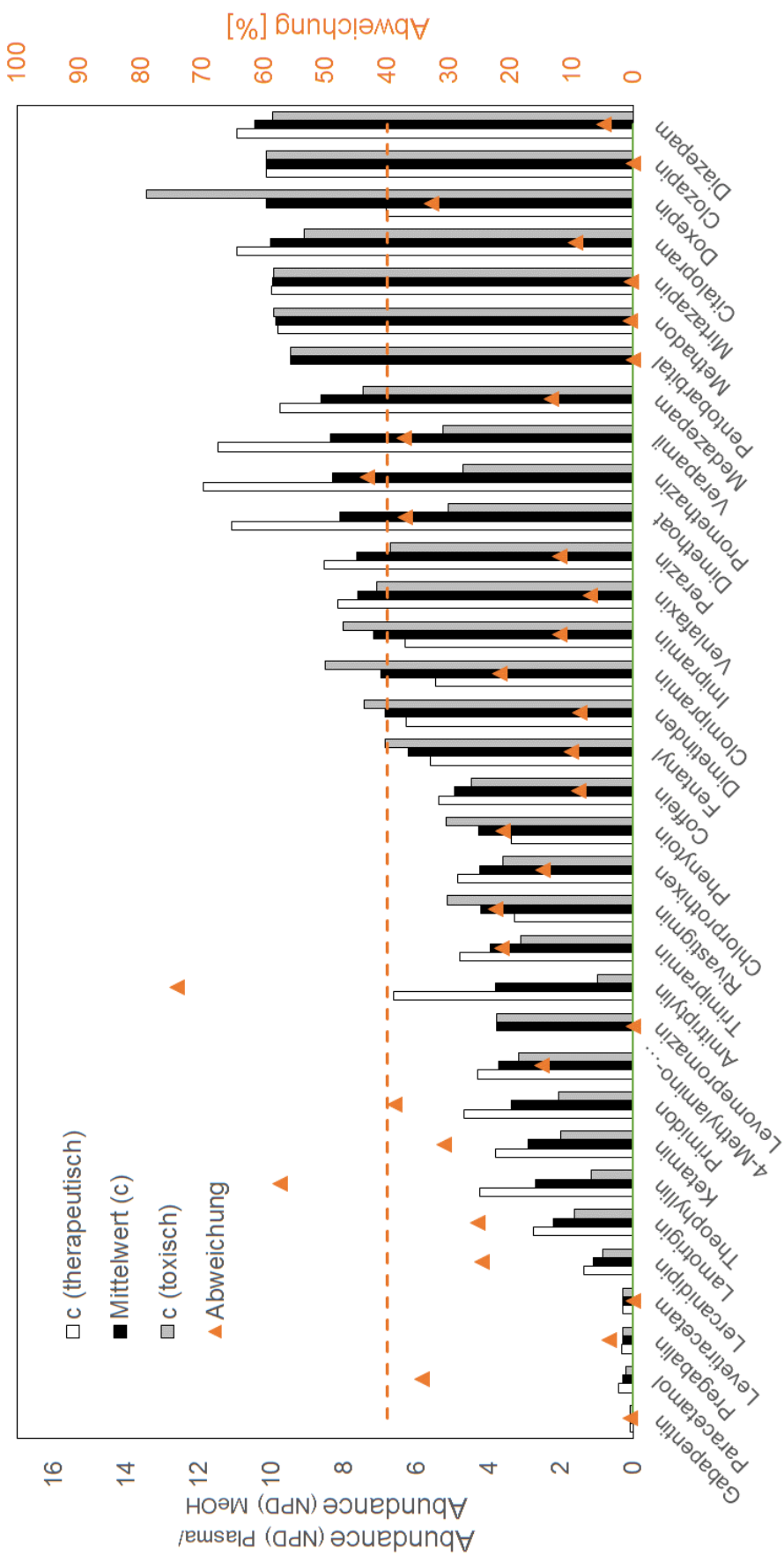


Abbildung 17a
Ermittlung der Anreicherungsfaktoren über GC/NPD
Erläuterung siehe Abbildung 17b

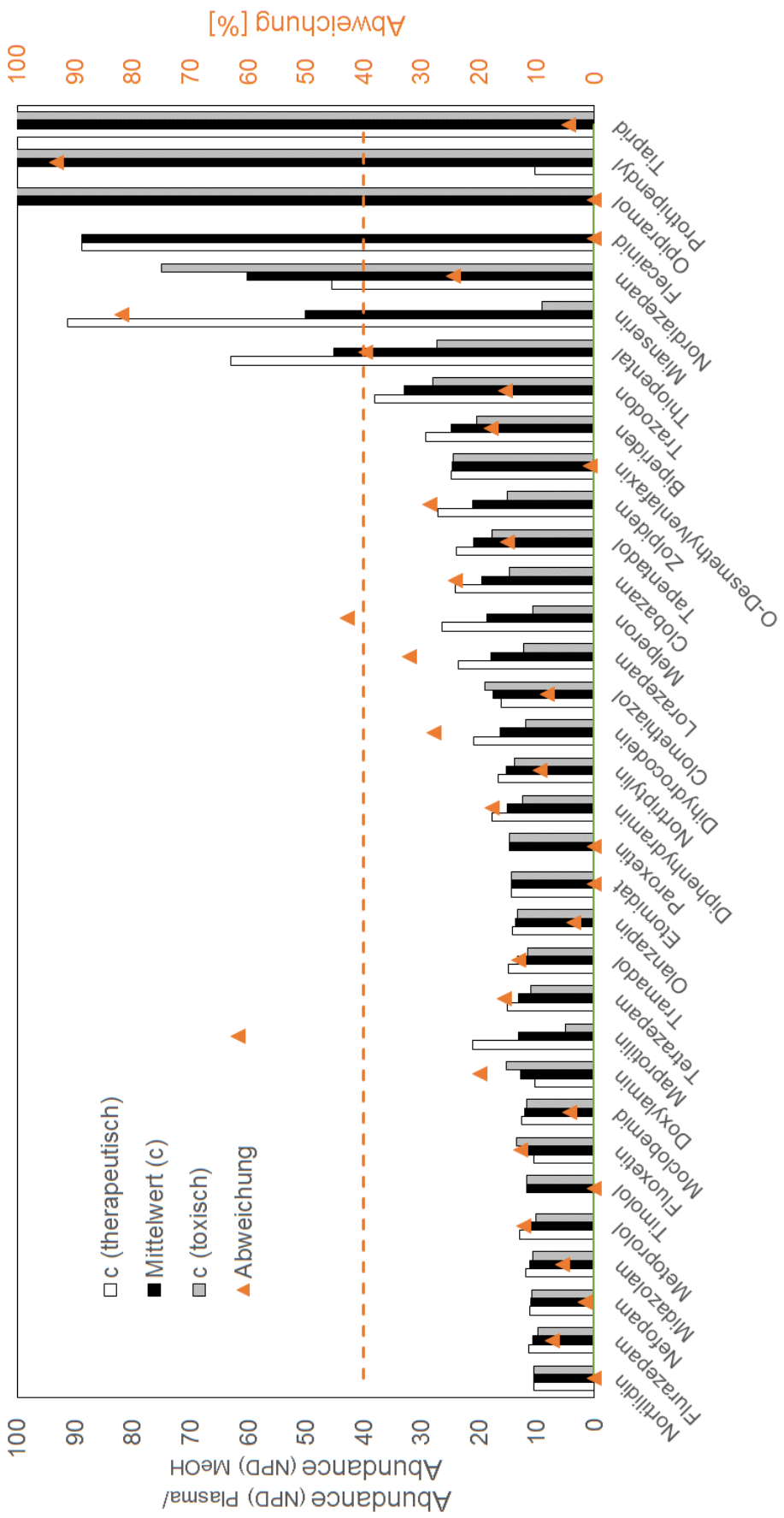


Abbildung 17b
Ermittlung der Anreicherungs-faktoren über GC/NPD
Der Quotient der über GC/NPD analysierten Abundance für aus Plasma extrahierte Substanzen und in Methanol gelöste Substanzen wurde ermittelt. Dargestellt sind die Quotienten bei oberster therapeutischer (c (therapeutisch)) und niedrigster toxischer (c (toxisch)) Konzentrationen, sowie deren Mittelwert. Die Substanzen wurden nach aufsteigendem Mittelwert angeordnet. (linke Ordinatenachse)
Die Abweichung der Quotienten vom Mittelwert wurde ermittelt und dargestellt. Der Cutoff der Abweichung beträgt 40%. (rechte Ordinatenachse)

Entsprechend den Anreicherungsfaktoren bei GC/MS-Detektion wurde für jede Substanz, welche sowohl in Methanol gelöst als auch aus Plasma extrahiert über GC/NPD detektiert wurde, der entsprechende Anreicherungsfaktor als Quotient der Abundance erstellt. Auffällig ist, dass über GC/MSD 58 Substanzen, über GC/NPD 68 Substanzen, hinsichtlich ihres Anreicherungsfaktors analysiert werden konnten. Weiterhin ist zu erkennen, dass die Mittelwerte der Anreicherungsfaktoren für eine Substanz variieren. So ist am Beispiel von Clobazam zu erkennen, dass der Mittelwert über GC/MSD 24,1 beträgt und über GC/NPD 19,5 beträgt. Bezüglich der relativen Abweichung wurde ermittelt, dass Amitriptylin, Maprotilin, Mianserin, Prothipendyl und Theophyllin eine Abweichung > 40% aufweisen.

4. G Anreicherung durch Extraktion am Beispiel von Clobazam bei GC/NPD

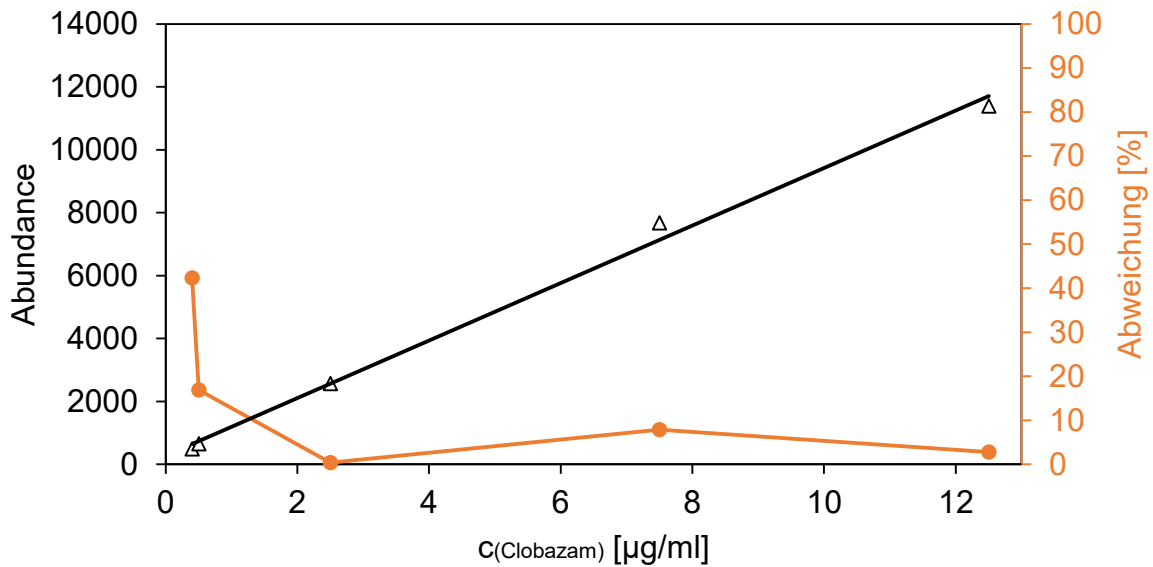


Abbildung 18

Konzentrationsreihe von Clobazam und relative Abweichung der Abundance von einem angenommenen linearen Verlauf über GC/NPD

In Anlehnung an Abbildung 15 wurde auf der linken Ordinatenachse die über GC/NPD ermittelte Abundance für in Methanol gelöstes Clobazam der Konzentrationen 0,4 µg/ml, 0,5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 7,5 µg/ml und 12,5 µg/ml aufgetragen (Dreiecke). Die rechte Ordianatenachse stellt die relative Abweichung des experimentell bestimmten Wertes vom linearen Verlauf dar (Punkte).

Wiederum entsprechend der konzentrationsabhängigen Anreicherungsversuche und Detektion über GC/MSD (4. E) wurde eine aufsteigende Konzentrationsreihe von in Methanol gelöstem Clobazam über GC/NPD bei 0,125 µg/ml bis 12,5 µg/ml erstellt. Die über GC/NPD ermittelte Abundance wurde in Abbildung 18 zur korrespondierenden Konzentration dargestellt. Es wurde ebenfalls eine positive Korrelation zwischen steigender Konzentration und zugehöriger Abundance festgestellt. Die relative Abweichung der experimentell ermittelten Abundance von einem linearen Zusammenhang zwischen Abundance und Konzentration wurde ermittelt. Diese relative Abweichung wurde in Abbildung 18 auf der rechten Ordinatenachse dargestellt. Hierbei ist zu erkennen, dass bei einer niedrigen Konzentrationen von 0,4 µg/ml die Abweichung 42 % beträgt und beispielsweise 3 % bei der höchsten Konzentrationen von 12,5 µg/ml.

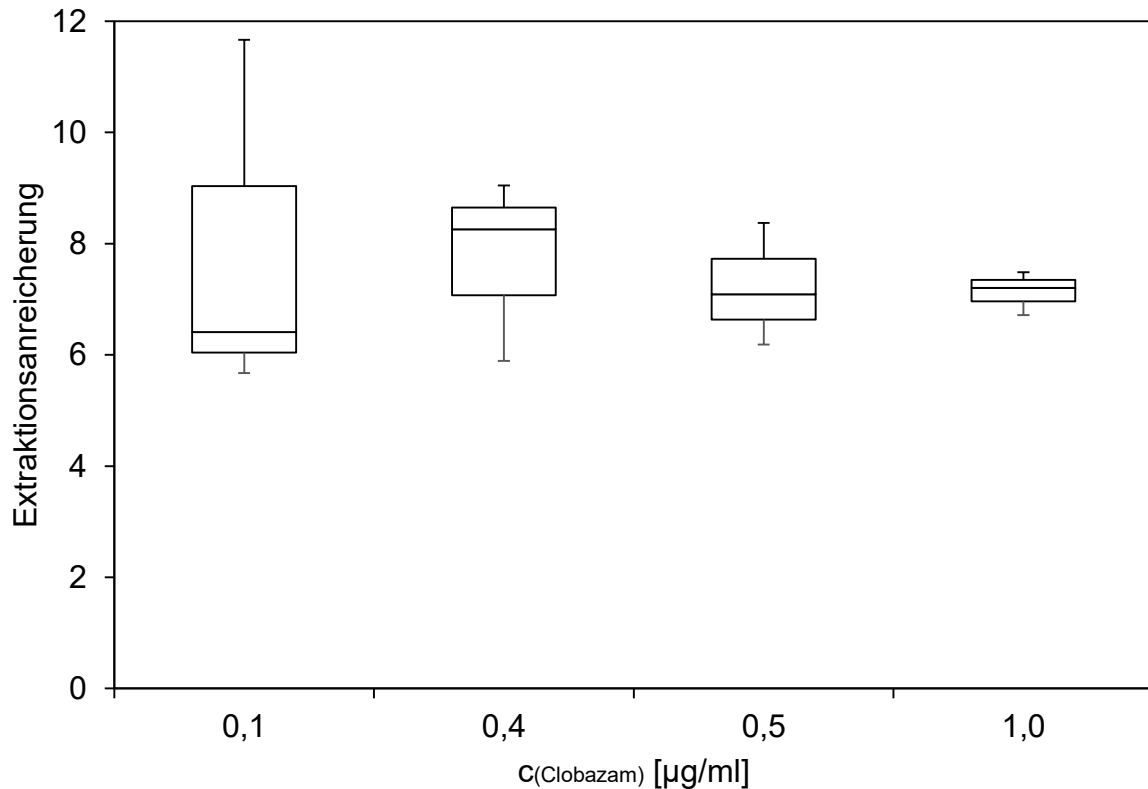


Abbildung 19

Extraktionsanreicherung von aus Plasma extrahiertem Clobazam über GC/NPD

Für die dargestellten Konzentrationen von 0,1 µg/ml bis 1,0 µg/ml wurden die Abundance-Werte für aus Plasma extrahiertes Clobazam bei GC/NPD-Analytik ermittelt. Aufgetragen sind die errechneten Extraktionsfaktoren für den in Abbildung 18 dargestellten Zusammenhang zwischen Konzentration und Abundance.

Im Vergleich zur ermittelten Anreicherung für aus Plasma extrahiertes Clobazam und MS-Detektion (vgl. Abbildung 16) fällt auf, dass der Median der Anreicherungsfaktoren bei Detektion über NPD relativ konstant um den Wert $7,2 \pm 0,76$ variiert. Außerdem wurde ermittelt, dass die Varianz der Extraktionsanreicherung, wie bei für aus Plasma extrahiertem Clobazam über MS-Detektion, mit steigender Konzentration abnimmt.

4. H Sensitivität des GC/NPD in Abhängigkeit der Anzahl der Stickstoffatome

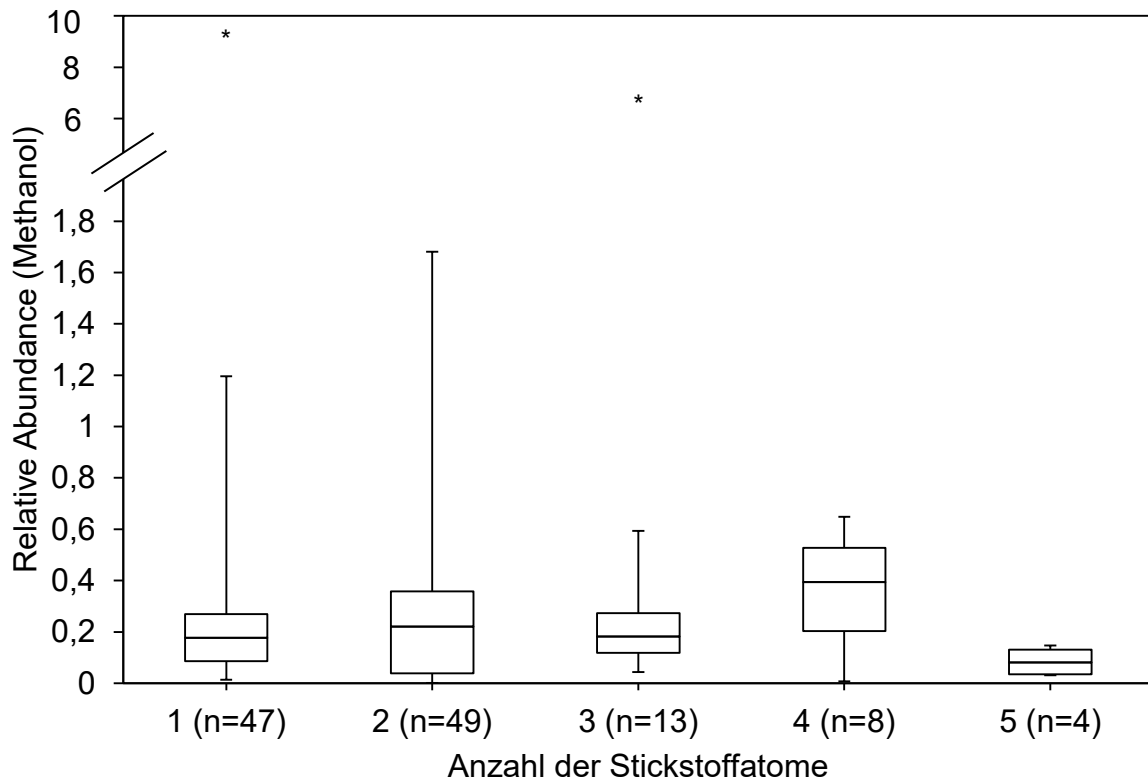


Abbildung 20

Relative Abundance in Methanol gelöster Substanzen gegenüber der Anzahl der Stickstoffatome der Substanz

Die Abundance der in Methanol gelösten Substanzen wurde auf eine Konzentration von 1 µg/ml normiert und ins Verhältnis zur Abundance des IST gesetzt. Dargestellt sind die ermittelten Ergebnisse in Bezug auf die Stickstoffanzahl der Substanzen.

In Methanol gelöste Substanzen wurden hinsichtlich der Erkennbarkeit anhand ihrer Stickstoffatome untersucht. Dazu wurden die ermittelten Abundance-Werte auf eine Konzentration von 1 µg/ml normiert und ins Verhältnis zur Abundance des IST gesetzt (Gleichung 2).

$$\text{Relative Abundance} = \frac{\text{Abundance (Substanz)}}{(\text{Abundance (IST)} \times c(\text{Substanz}))}$$

Gleichung 2

Berechnung der relativen Abundance

Anschließend wurden die Ergebnisse im Bezug zur Anzahl der Stickstoffatome der Substanz betrachtet. Der Median der relativen Abundance bleibt bis zu drei Stickstoffatomen mit $0,2 \pm 0,02$ relativ konstant. Bei einer Anzahl von vier Stickstoffatomen beträgt der Median der relativen Abundance 0,4 und bei fünf Stickstoffatomen 0,08. Sildenafil und Zopiclon, als Substanzen mit einer Anzahl von sechs Stickstoffatomen, wurde in Methanol gelöst nicht detektiert.

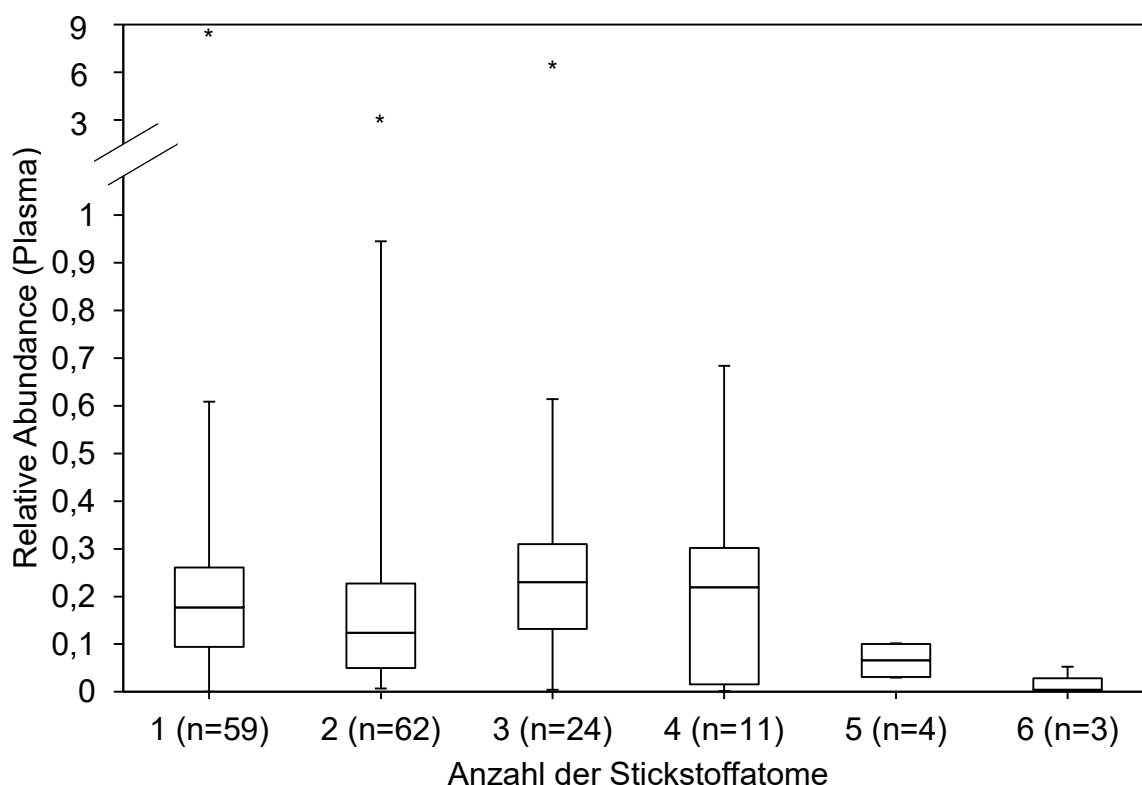


Abbildung 21

Relative Abundance aus Plasma extrahierter Substanzen gegenüber der Anzahl der Stickstoffatome der Substanz

Die Abundance der aus Plasma extrahierten Substanzen wurde auf eine Konzentration von 1 µg/ml normiert und ins Verhältnis zur Abundance des IST gesetzt. Dargestellt sind die ermittelten Ergebnisse in Bezug auf die Stickstoffanzahl der Substanzen.

Aus Plasma extrahierte Substanzen wurden auf die resultierende Signalstärke in Abhängigkeit der jeweiligen Anzahl ihrer Stickstoffatome untersucht. Im Gegensatz zu den in Methanol gelösten Substanzen bleibt der Median der relativen Abundance bis zu einer Anzahl von vier Stickstoffatomen konstant um $0,2 \pm 0,05$. Bei einer Anzahl von fünf Stickstoffatomen beträgt der Median der relativen Abundance 0,07 und bei sechs Stickstoffatomen 0,004.

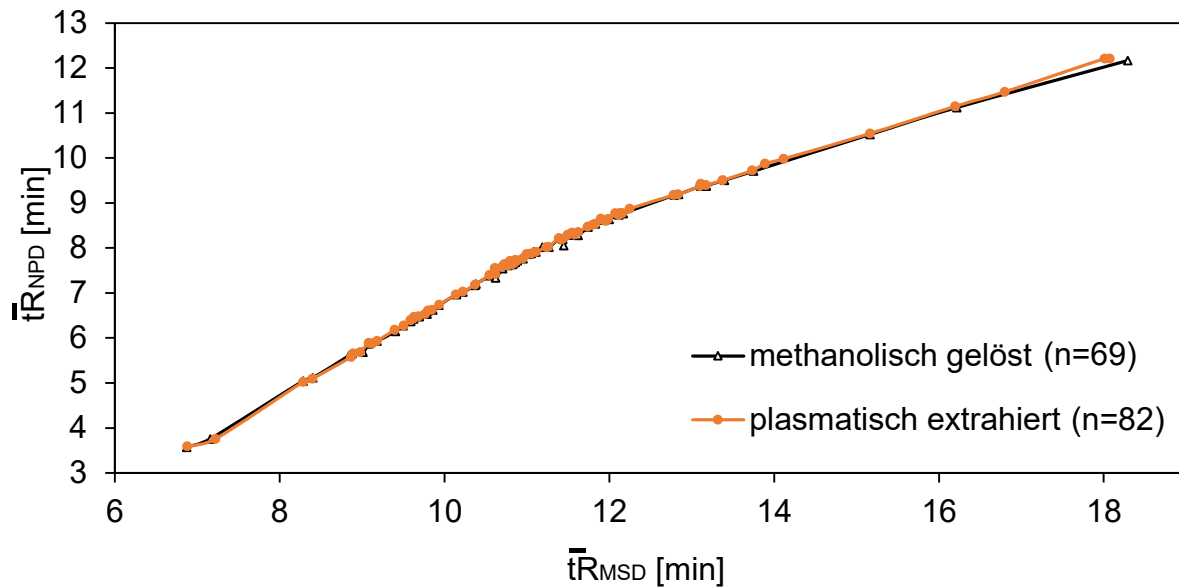
4.1 Vergleich der Retentionszeiten (t_R) über GC/MSD und GC/NPD

Abbildung 22

Vergleich der Mittelwerte der Retentionszeit ($\overline{t_R}$) der detektierten Substanzen über GC/MSD und GC/NPD

Die Retentionszeiten (t_R) der in Methanol gelösten und aus Plasma extrahierten Substanzen in oberster therapeutischer Konzentration bzw. niedrigster toxischer Konzentration wurden über GC/MSD und GC/NPD ermittelt. Aufgetragen sind die Mittelwerte der jeweilig korrespondierenden t_R .

Die in Methanol gelösten bzw. aus Plasma extrahierten Substanzen wurden bezüglich ihrer Retentionszeiten (t_R) untersucht. Hierfür wurden die Mittelwerte der jeweiligen in oberster therapeutischer Konzentration bzw. niedrigster toxischer Konzentration ermittelten Werte erstellt ($\overline{t_R}$). Anschließend wurden die korrespondierenden $\overline{t_R}$ für GC/MSD und GC/NPD in Abbildung 22 dargestellt. Es wurden 69 Wertepaare für in Methanol gelöste Substanzen und 82 Wertepaare für aus Plasma extrahierte Substanzen ermittelt. Mit steigender $\overline{t_R}_{MSD}$ steigen die korrespondierenden $\overline{t_R}_{NPD}$ an. Es besteht zwischen beiden $\overline{t_R}$ keine einfache Linearität. Eine Änderung des Verhältnisses zwischen $\overline{t_R}_{MSD}$ und $\overline{t_R}_{NPD}$ besteht ab $\overline{t_R}_{MSD}(\text{Levomepromazin})$ von ca. 12 Minuten.

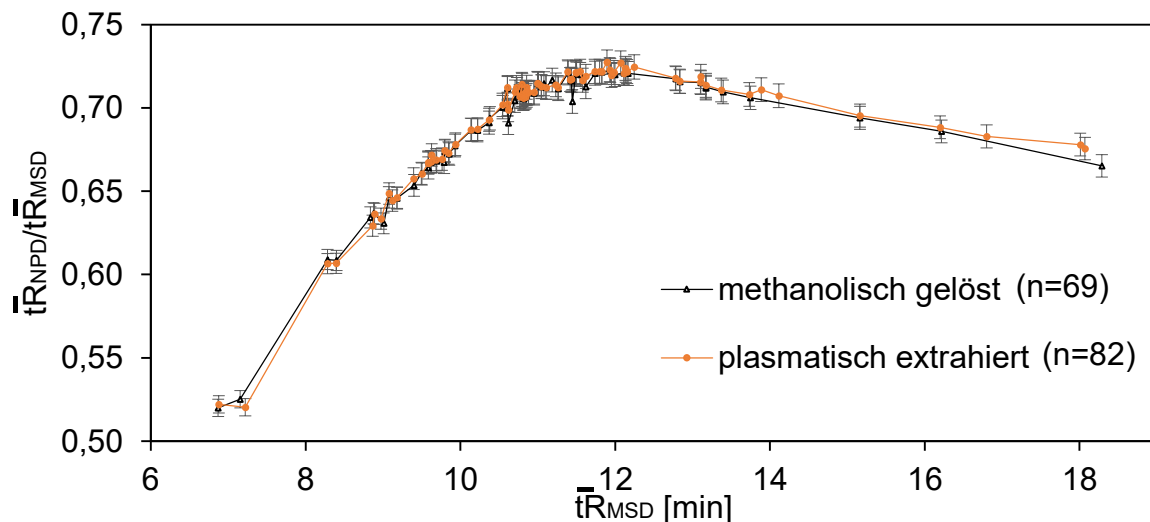


Abbildung 23

Vergleich des Quotienten der \overline{tR} der detektierten Substanzen über GC/MSD und GC/NPD im Verhältnis zur \overline{tR} über GC/MSD

Dargestellt sind die Quotienten der Mittelwerte der jeweilig korrespondierenden tR zum \overline{tR}_{MSD} der in Methanol gelösten und aus Plasma extrahierten Substanzen. Außerdem wurde ein Fehlerindex von 1% dargestellt. Analog wurden die aus Plasma extrahierten Werte dargestellt.

Der in Abbildung 22 erläuterte Zusammenhang zwischen \overline{tR}_{MSD} und \overline{tR}_{NPD} wurde durch Abbildung 23 ergänzt. Es wurde der Quotient aus \overline{tR}_{MSD} und \overline{tR}_{NPD} ermittelt. Dieser Quotient wurde dem \overline{tR}_{MSD} der jeweiligen Substanz gegenübergestellt. Es ist ein Anstieg des Quotienten bis $\overline{tR}_{MSD(Levomepromazin)}$ von ca. 12 Minuten zu erkennen. Bei weiter ansteigendem \overline{tR}_{MSD} liegt ein Abfall vor. Es ist zu erkennen, dass im Intervall \overline{tR}_{MSD} von 10 Minuten bis 11 Minuten eine größere Variabilität in den Wertepaaren vorliegt. Dies ist der Bereich mit der größten Dichte an Werten. Mit einem Fehler von 1% liegen Dextromethorphan ($\overline{tR}_{MSD(Dextromethorphan)} = 10,6 \text{ min}$) und Lorazepam ($\overline{tR}_{MSD(Lorazepam)} = 11,4 \text{ min}$) für in Methanol gelöste Substanzen nicht im Trend. Mit einem Fehler von 1% liegt Dextromethorphan für aus Plasma extrahierten Substanzen nicht im Trend.

4. J Vergleich der Detektionsergebnisse für aus Plasma extrahierte Substanzen über GC/MSD und GC/NPD

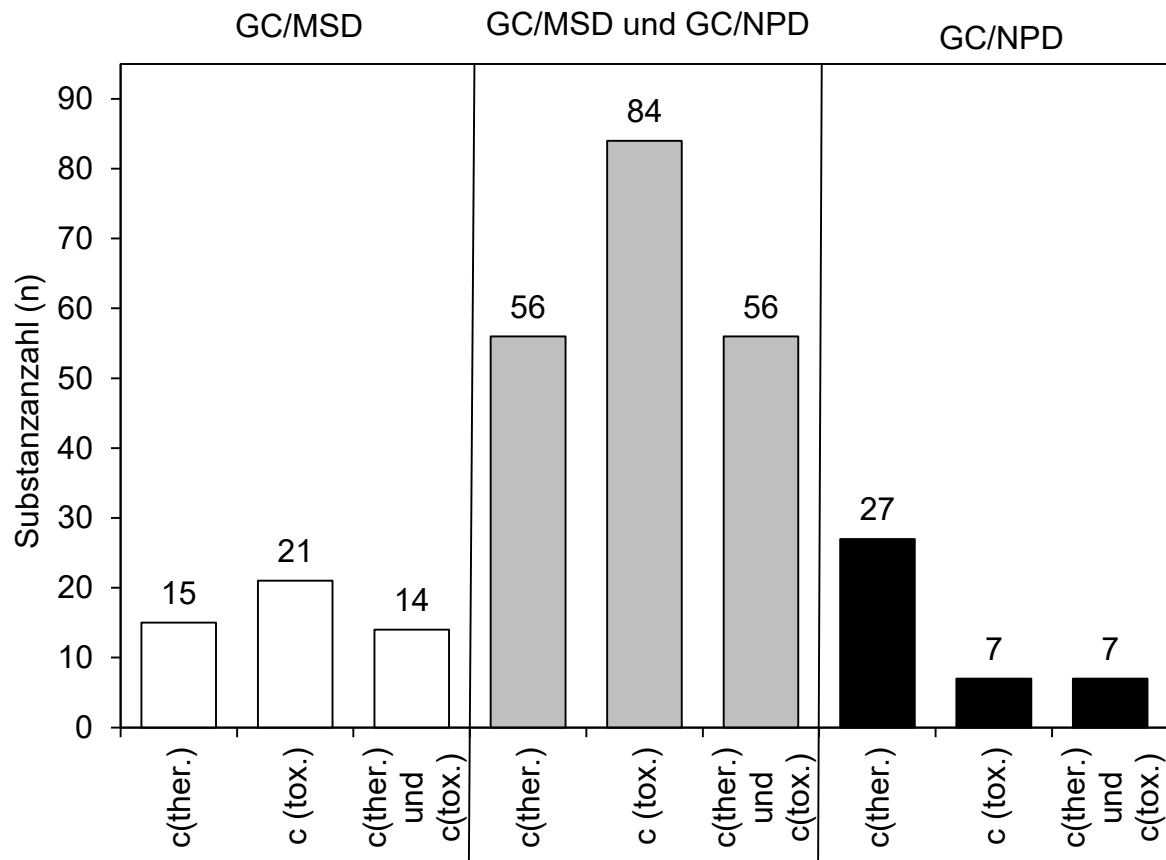


Abbildung 24

Vergleich der Detektionsergebnisse für 145 aus Plasma extrahierte Substanzen über GC/MSD und GC/NPD

145 Substanzen wurden in oberster therapeutischer Konzentration und niedrigster toxischer Konzentration aus Plasma extrahiert und über GC/MSD und GC/NPD analysiert. Dargestellt ist die Anzahl der Substanzen, die nur über GC/MSD, die über GC/MSD und GC/NPD und die nur über GC/NPD detektiert wurden.

145 aus Plasma extrahierte Substanzen wurden hinsichtlich ihrer Erkennbarkeit über GC/MSD und GC/NPD verglichen. Bei oberster therapeutischer Konzentration wurden 15 Substanzen nur über GC/MSD, 56 Substanzen sowohl über GC/MSD als auch GC/NPD und 27 Substanzen nur über GC/NPD detektiert. Bei niedrigster toxischer Konzentration wurden 21 Substanzen nur über GC/MSD, 84 Substanzen sowohl über GC/MSD als auch GC/NPD und 7 Substanzen nur über GC/NPD detektiert. Außerdem wurde untersucht, ob die in oberster therapeutischer Konzentration detektierten Substanzen auch in niedrigster toxischer Konzentration detektiert wurden. Von 15

Substanzen, die in oberster therapeutischer Konzentration ausschließlich über GC/MSD detektiert wurden, wurden 14 auch in niedrigster toxischer Konzentration ausschließlich über GC/MSD detektiert. Dextrometorphan wurde in niedrigster toxischer Konzentration über GC/MSD und zusätzlich über GC/NPD detektiert. Von 27 Substanzen, die in oberster therapeutischer Konzentration ausschließlich über GC/NPD detektiert wurden, wurden nur 7 auch in niedrigster toxischer Konzentration ausschließlich über GC/NPD detektiert (Tabelle 5). Dementsprechend wurden die übrigen 20 Substanzen in niedrigster toxischer Konzentration über GC/MSD und GC/NPD detektiert.

Tabelle 5

Aus Plasma extrahierte Substanzen mit alleiniger Detektion über GC/NPD bei oberster therapeutischer Konzentration (GC/NPD c_{th}) bzw. niedrigster toxischer Konzentration (GC/NPD c_{tox})

GC/NPD c_{th}		GC/NPD c_{tox}
Bisoprolol	Nordiazepam	
Bromazepam	Nortriptylin	
Chloroquin	Olanzapin	
Flupirtin	Opipramol	Isradipin
Fluvoxamin	Paracetamol	Nitrendipin
Gabapentin	Paroxetin	Opipramol
Gallopamil	Pregabalin	Paroxetin
Isradipin	Prothipendyl	Pregabalin
Lercanidipin	Sildenafil	Sildenafil
Lorazepam	Theophyllin	Theophyllin
Maprotilin	Timolol	
Metoclopramid	Trazodon	
Nimoldipin	Venlafaxin	
Nitrendipin		

Bei oberster therapeutischer Konzentration wurden 27 Substanzen ausschließlich über GC/NPD (GC/NPD c_{th}) detektiert. Bei niedrigster toxischer Konzentration wurden 7 dieser Substanzen ausschließlich über GC/NPD (GC/NPD c_{tox}) detektiert. Die übrigen 20 Substanzen wurden bei niedrigster toxischer Konzentration auch über GC/MSD detektiert.

5. Diskussion

Bei Situationen eines Intoxikationsverdachts werden standardmäßig frühzeitig Urin- und Blutproben zur toxikologischen Analyse gewonnen.⁴⁷ Als weitere Untersuchungsmaterialien zum möglichen Substanznachweis eignen sich Haare und Nägel bei Verdachtsfällen chronischer Intoxikation oder Speichel zur Schnelltestung.^{48,49} Hinsichtlich des zu analysierenden Mediums wurde für diese Arbeit Plasma als Untersuchungsmaterial gewählt. Zwar hat Urin die Vorteile, dass man ihn einerseits nicht invasiv gewinnen kann - wobei eine Katheterisierung bei akutem Harnverhalt oder Verdacht der Verunreinigung nötig sein kann.⁵⁰ Außerdem werden, abhängig vom scheinbaren Verteilungsraum, häufig im Harn höhere Konzentrationen der toxischen Substanz vorliegen und sich Abbauprodukte im Urin anreichern.^{51,52} Für Wirkstoffe mit geringen Plasmakonzentrationen oder kurzen Halbwertszeiten kann die Urinanalyse somit wertvolle, qualitative Informationen liefern.⁵³ Auf der anderen Seite hat Plasma den Vorteil, dass es in der Literatur für sehr viele potentiell toxische Stoffe veröffentlichte therapeutische bzw. toxische Konzentrationen gibt.³⁹ Außerdem können sich bei akuten Intoxikationen im Plasma schneller Ergebnisse als durch Urinanalytik ergeben⁵⁴ (Abbildung 25).

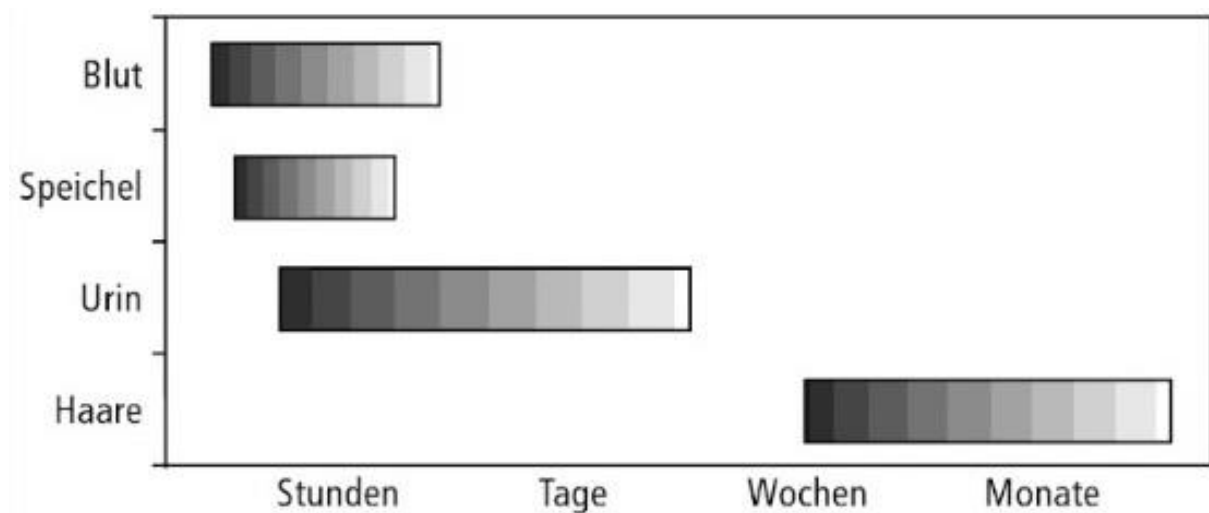


Abbildung 25

Zeitliche Nachweisfenster verschiedener Untersuchungsmaterialien⁵⁴

Blut erlaubt die frühesten Nachweiszeitpunkte bei einer akuten Intoxikation. Dies ist einer der Gründe, weshalb Plasma in dieser Arbeit genutzt wurde.

So wird vom *Forensisch Toxikologischen Centrum München*⁵⁵ empfohlen bei akuter Intoxikation Blut zu analysieren, da die Kenntnis der Substanzkonzentration eine Aussage über den Intoxikationsgrad, d.h. eine mögliche Beeinflussung des Patienten, und weiterhin bei bekanntem Aufnahmezeitpunkt über die aufgenommene Menge, bzw. bei bekannter aufgenommener Menge über den Aufnahmezeitpunkt erlaubt.

Die GC als eine etablierte und vielfach verwendete Nachweismethode bei akuter Intoxikation weist Limitationen auf, welche die Detektion einzelner Substanzen erschweren. So sind schwerflüchtige oder thermolabile Stoffe häufig nicht oder nur nach Derivatisierungen, über GC zu analysieren.⁵⁶ Für Analysen ausgesuchter Substanzen können Derivatisierungsreaktionen häufig bereits aus der Literatur übernommen werden^{57–64} oder müssten erst entwickelt werden. Beispielsweise können Zucker erst nach Silylierung über den MSD detektiert werden⁶⁵ oder müssen langkettige Fettsäuren zu entsprechenden Fettsäuremethylestern derivatisiert werden, um chromatographisch gut auswertbare Peaks zu erzeugen.^{66,67} Weiterhin gibt es Derivatisierungsreaktionen, welche exklusiv für einzelne Medikamente entwickelt wurden.^{23,68–71} Für Fragestellungen einer Intoxikation mit unbekannten Substanzen wurden verschiedene Ansätze entwickelt, um die Identifikation einer größeren Anzahl an unbekannten Substanzen zu verbessern.^{6,22,25,72,73} Eine individuelle Derivatisierung für einzelne Substanzen oder Substanzgruppen kann eine längere Analysezeit erfordern als Analysen ohne zusätzliche Derivatisierung, da beispielsweise mehrere Analyseansätze vorbereitet und ausgewertet werden müssen. Da die technischen Voraussetzungen und personellen Infrastrukturen der klinischen Toxikologie der UMR im klinischen Alltag Limitationen aufweist, wird an der UMR auf eine reguläre Derivatisierung verzichtet, wodurch die 154 in diese Arbeit eingeschlossenen Substanzen ohne Derivatisierung analysiert wurden.

Wie in Abbildung 11 und Tabelle 3 zu erkennen ist, wurden 24 von 154 in Methanol gelöste Substanzen über GC/MSD ohne vorherige Derivatisierung nicht erkannt. Die Detektion von Amlodipin wurde in der Literatur über *HPLC* Detektion beschrieben.^{74–76} Gleiches gilt für Aripiprazol^{77,78}, Benazepril⁷⁹, Benperidol^{80,81}, Bupropion^{82,83}, Buspiron⁸⁴, Fluspirilen^{85,86}, Formoterol⁸⁷, Lisinopril^{88,89}, Naloxon⁹⁰, Nebivolol⁹¹, Nitrendipin⁹², Paliperidon⁹³, Perphenazin⁹⁴, Piracetam⁹⁵, Pregabalin⁸⁸, Quinapril⁹⁶, Reboxetin⁹⁷, Risperidon⁹⁸, Salmeterol⁸², Sildenafil⁹⁹, Sulpirid¹⁰⁰ und Zuclopenthixol⁸⁶, die ebenso nicht über GC/MSD detektiert wurden. Tranylcypromin wurde über GC/MSD von Maurer et al.¹⁰¹ in acetylierter Form in Rattenurin detektiert. Allerdings

wurde auch ermittelt, dass hydrolysierte Norfluoxetinfragmente als Tranylcypromin detektiert werden, sodass eine Differenzierung nur noch über t_R möglich war.

GC/MSD wird bei modernen Analysen häufig verwendet, weil es meist eine Trennung und eindeutige Identifizierung von Komponenten unterschiedlicher Strukturen, auch bei ähnlichen t_R ermöglicht. Zur Sensitivitätssteigerung kann der SIM-Modus verwendet werden, womit selektive Massen analysiert werden, um weiterhin störende Untergrundsignale auszublenden. Die Analyse über GC/NPD, als selektiven Detektor, zeichnet sich im Gegensatz dazu durch eine höhere Spezifität und Sensitivität für Substanzen mit Stickstoff- und/oder Phosphoratomen im Molekül aus. Dadurch kann für einzelne Substanzen die Sensitivität bei Verwendung einer NPD-Einheit höher sein als unter Verwendung einer MSD-Einheit^{18,102,103} (Abbildung 26).

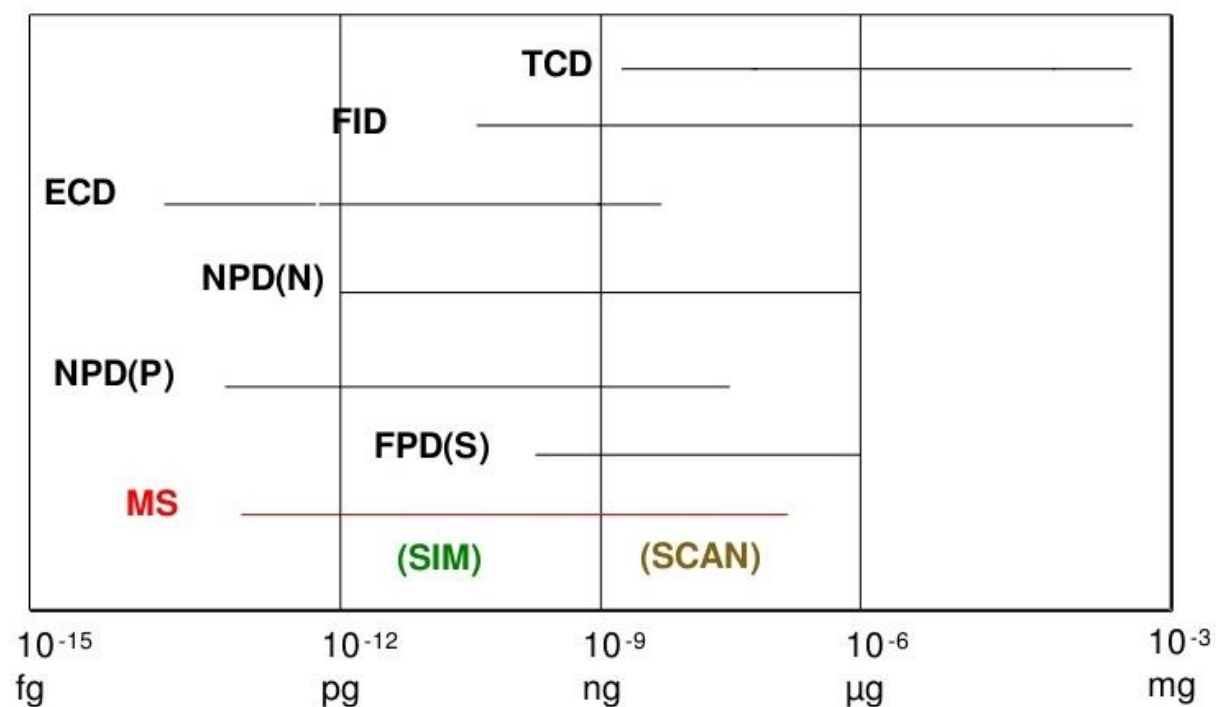


Abbildung 26

Sensitivitätsvergleich von häufig verwendeten GC-Detektoren¹⁰⁴

Die Sensitivität der MS-Einheit kann durch die Verwendung des SIM-Modus gesteigert werden. Die NPD-Analyse kann sensitiver sein als die Analyse über MSD.

Dieser Sachverhalt konnte auch in dieser Arbeit gefunden werden. Wie in Abbildung 12 zu erkennen ist, kann der GC/NPD für in Methanol gelöste Substanzen, zumindest für die verwendeten Konzentrationen, als sensitiver angesehen werden als der GC/MSD. Demgegenüber ist aus Abbildung 13 erkenntlich, dass bei aus Plasma extrahierten Substanzen für einen beginnend toxischen Konzentrationsbereich eine allgemein erhöhte Sensitivität der NPD-Einheit gegenüber der MSD-Einheit nicht zu

bestehen scheint. Weiterhin ist aus Abbildung 13 zu erkennen, dass eine Extraktionsanreicherung stattfand, da die Analytik über GC/MSD und GC/NPD mehr positive Detektionen erbrachte.

Zur Extraktion von Substanzen aus Plasma gibt es verschiedene in der Literatur veröffentlichte Methoden.^{22,27,105–108} In dieser Arbeit wurde ein basischer Puffer (pH = 9,3) verwendet, um eine bessere Extraktion der mehrheitlich eher basischen Substanzen zu erzielen. Als Extraktionsmittel wurde ein Lösungsmittelgemisch (LÖMI) gewählt, für welches sich ein höheres spezifisches Gewicht als für Wasser ergibt, so dass nach Phasentrennung durch Zentrifugation die organische Phase als die untere Phase erscheint. Bei einem verwendeten Volumen von 200 µl LÖMI zu 1000 µl methanolischer Probe, ist eine maximale Anreicherung um das 5-Fache zu erwarten gewesen. Es ist interessant, dass die ermittelten Anreicherungen teilweise weit über dem 5-Fachen lagen, wie man aus den Abbildungen 14 a/b und 17 a/b entnehmen kann.

Am Beispiel von Clobazam wurde dieses > 5-fache Verhältnis untersucht. Zunächst ist zu bedenken, dass Clobazam einen Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ($\log P$) von 2,12 aufweist. Somit hat Clobazam einen stark lipophilen Charakter und tritt nahezu vollständig in die Lösungsmittelphase über. Aus Abbildung 15 und 18 ist weiterhin zu erkennen, dass die untersuchten Konzentrationen im dynamischen Bereich der Nachweisgrenze der Messeinheiten für die getestete Substanz liegen, in dem eine größere Abweichung vom linearen Verhältnis zwischen Detektorsignal und Substanzkonzentration vorliegt.¹⁰⁹ Um eine Linearität und somit eine quantitative Aussage in diesen Konzentrationsbereichen zu gewährleisten müsste man für jede zu testende Substanz die Messeinheit neu kalibrieren. Hierbei handelt es sich um einen Schritt der bei Intoxikationen mit unbekannten Substanzen als nicht zielführend anzusehen ist, sodass sich diese Arbeit an etablierten Einstellungen orientierte.^{6,15,17,22} Ein weiterer zu beachtender Aspekt liegt im verwendeten LÖMI begründet. Dieses enthält einen hohen Anteil an Chloroform und Essigsäureethylester, welche bei der Injektionstemperatur von 280°C ein deutlich geringeres Volumen einnehmen als Methanol. Da die injizierten Volumina im Grenzbereich des Linervolumens liegen, ist folglich ein höherer Splitverlust für methanolische Proben anzunehmen. Die entsprechenden Versuche hätten somit entweder bei einem deutlich vermindertem Injektionsvolumen von ca. 0,1- 0,2 µl erfolgen sollen - wobei dann ein höherer Präzisionsverlust allein durch die Injektion sowie folglich ein Sensitivitätsverlust zu

erwarten wären - oder mit einem gleichen Lösungsmittel erfolgen sollen, was bei in Methanol gelöst gelieferten Substanzen praktisch als Ausschlusskriterium anzusehen ist. Dennoch ist an diesem Versuch zu erkennen, dass der Median des aus Plasma extrahierten Clobazams über GC/NPD für die getesteten Konzentrationen relativ konstanter bleibt - bei ebenfalls geringer Varianz - als über GC/MSD. Damit erscheint der GC/NPD zumindest bei geringen Konzentrationen wiederholt sensitiver und genauer¹⁰⁴ (vgl. Abbildung 16 und 19).

Es konnte keine eindeutige Sensitivitätszunahme über GC/NPD mit steigender Anzahl der Stickstoff- (bzw. Phosphor-)atome gezeigt werden (vgl. Abbildungen 20 und 21). Möglicherweise liegt dies darin begründet, dass stickstoffhaltige Substanzen über GC/NPD nur detektiert werden, wenn sie in der thermischen Pyrolyse Cyanidradikale $CN\cdot$ bilden.^{18,110} In der Rubidiumperle des NPD reagiert $CN\cdot$ mit einem Elektron der angeregten Perle, wodurch ein Cyanid-Ion und ein Kation gebildet werden, welche den Signal-Strom bilden. Zur Bildung eines Cyanidradikals muss eine C-N-Verbindung im Molekül vorliegen. Daher werden beispielsweise Substanzen mit einer Nitrogruppe im Molekül detektiert, aber nicht Nitrater, Ammoniak oder Stickoxide. Bereits partiell oxidierte C-Atome, wie in Säureamide oder in Barbituraten, weisen eine geringere Empfindlichkeit als Nitroverbindungen auf (Abbildung 27).

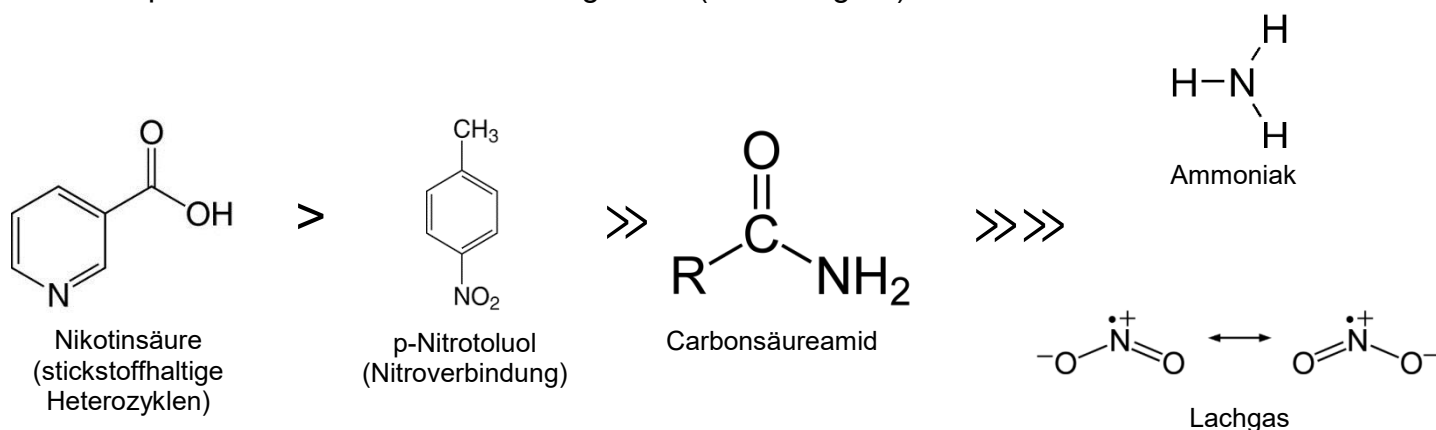


Abbildung 27

Beispielhafte funktionelle, stickstoffhaltige Gruppen mit absteigender Sensitivität über GC/NPD

Nikotinsäure¹¹¹ mit einem stickstoffhaltigen Heterozyklus bildet unter thermischer Pyrolyse $CN\cdot$, welches mit der Rubidiumperle im GC/NPD reagiert und einen messbaren Strom erzeugt. Weniger reaktiv sind Nitroverbindungen, wie beispielsweise p-Nitrotoluol¹¹². Partiiell oxidierte Stickstoffatome, wie Carbonsäureamide¹¹³, sind wiederum weniger reaktiv in thermischer Pyrolyse. Stickstoffhaltige Substanzen ohne C-N-Verbindung, wie Ammoniak¹¹⁴ und Lachgas¹¹⁵, bilden in thermischer Pyrolyse keine $CN\cdot$ und werden somit über GC/NPD nicht detektiert.

Nach dem Gesetz der großen Zahlen kann man annehmen, dass sich dieser Effekt zumindest für Substanzen mit bis zu 3 Stickstoffatomen relativiert. Es ist interessant, dass dies nicht zutrif.

Ein Vorteil in der Detektion über GC/NPD bei aus Plasma extrahierten Proben besteht darin, dass endogene Stoffe, die kein Stickstoffatom enthalten, wie beispielsweise Cholesterin (Abbildung 28), nicht über GC/NPD detektiert werden. Im Vergleich der Abbildungen 8 und 10 ist zu erkennen, dass Cholesterin über GC/MSD einen sehr breiten Peak im Chromatogramm erzeugt, was eine Detektion von Substanzen, die um diesem Zeitpunkt koeluieren, erschwert bis gänzlich unmöglich machen kann.

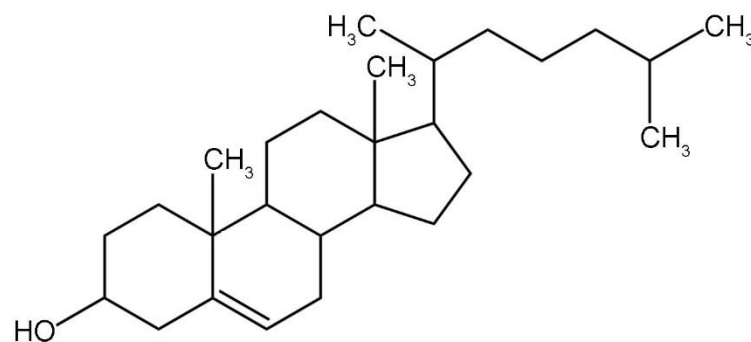


Abbildung 28
Strukturformel von Cholesterin¹¹⁶

Ein Nachteil der Detektion über GC/NPD besteht im Fehlen einer eindeutigen Identifikation der Substanz im Peak. Wie in Abbildung 23 zu erkennen ist, muss ein über GC/NPD detektierter Peak der zugehörigen Substanz anhand der relativen Retentionszeit(en) sicher zugeordnet werden. Da die Retentionszeit von aktuellen technischen Gegebenheiten, wie der Säulenlänge, dem Temperaturprofil und den Gasdrücke abhängig ist, ist eine automatisierte, annähernd präzise Substanzerkennung bei NPD-Nutzung prinzipiell primär nicht möglich. Folglich ergibt sich bei Nutzung eines NPD im Allgemeinen eine deutlich verlängerte Analysezeit durch unklare Substanzerkennungen. Im schlimmsten Fall ist eine Quantifizierung gar nicht möglich, da beispielsweise eine endogene Substanz mit der gesuchten Substanz koeluieren könnte.

Hinsichtlich der Zielstellung dieser Arbeit, ob die kombinierte GC/MSD- und GC/NPD-Detektion von Plasmaextrakten mehr positive Analyseergebnisse erbringt, als die alleinige Detektion über GC/MSD, zeigt diese Arbeit, dass über GC/NPD sieben aus Plasma extrahierte Substanzen bei niedrigster toxischer Konzentration detektiert

wurden, welche über GC/MSD nicht registriert wurden (vgl. Abbildung 24 und Tabelle 5). Es gilt zu diskutieren, ob diese sieben Substanzen eine wie oben beschriebene Verlängerung der Analysezeit in akuten Intoxikationssituationen durch kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD rechtfertigen.

Theophyllin, als second-line Medikament, wird zur Behandlung und Verhütung einer Bronchokonstriktionen bei Asthma bronchiale und chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen aufgrund einer Bronchodilatation durch Hemmung nicht selektiver Phosphodiesterasen und möglicherweise auch durch eine Steigerung der Atemmuskulatur eingesetzt.¹¹⁷ Aufgrund der geringen therapeutischen Breite, treten bei Theophyllin dosisabhängig relativ häufig unerwünschte Nebenwirkungen auf.¹¹⁸ Dazu gehören Übelkeit, Erbrechen, abdominale Schmerzen, Schlafstörungen, Muskelkrämpfe und Hypokaliämien, welche lebensbedrohliche atriale und ventrikuläre Herzrhythmusstörungen, sowie zerebrale Anfälle bedingen können. Im Falle einer Überdosierung können plötzliche Hypotonien und gastrointestinale Blutungen, sowie zentral-nervöse Symptome wie Konvulsionen bis hin zum Delir oder Koma das klinische Bild dominieren.¹¹⁹ Als allgemeine Maßnahme bei Intoxikation wird zunächst eine intensiv-medizinische Überwachung angesehen. Hierbei stehen die Kontrolle der Herz-Kreislauf-Parameter und der Sauerstoffsättigung des Blutes im Fokus. Zur Unterstützung der Kreislauffunktion und als therapeutische Maßnahme bei einer Hypotonie, gilt es Volumen über intravenöse Injektion zu substituieren. Bei frustraner Blutdruckeinstellung sind vasokonstriktorisch wirksame Substanzen, wie Dopamin, indiziert. Bei Bradykardie ist Atropin indiziert.¹²⁰ Zum Krampfschutz ist gegebenenfalls die Applikation von Diazepam, sowie Sauerstoff- und Volumenzufuhr¹²¹ indiziert. Bei bedrohlichen Herzrhythmusstörungen ist bei Asthmatikern darauf zu achten, dass kein Propanolol, sondern Verapamil verwendet wird.¹²² Unter der Therapie mit Theophyllin sind regelmäßige Serumspiegelkontrollen indiziert¹¹⁷, weshalb in den meisten klinisch pharmakologischen Laboratorien spezifische Analysemethoden für Theophyllin existieren. Patienten, die mit Theophyllin eingestellt wurden, sind meist in der Klinik bekannt. In vermuteten Fällen einer Intoxikation kann der Patient selbst oder eine Bezugsperson aus seinem näheren Umfeld eine Assoziation zu Theophyllin herstellen. Zur Detektion von Theophyllin wurden viele Untersuchungsansätze getestet und etabliert. So gibt es Radioimmunassays¹²³, HPLC-Methoden^{124,125}, chemilumineszenz Immunassays^{126,127} und Nachweise basierend auf selbstorganisierte RNA Gold-basierten Nanopartikel.¹²⁸ Theophyllin stellt aufgrund seiner geringen, therapeutischen

Breite die einzige Substanz mit hoher toxischer Relevanz dar, welche über die Kombination bei GC/MSD und GC/NPD Analyse detektiert wurde. Dennoch ist aufgrund des zeitlichen Mehraufwands der Detektion über GC/NPD und in der Literatur beschriebenen, alternativen Nachweismethoden, die eine sichere Analyse gewähren, die Detektion über GC/NPD nicht zu empfehlen.

Paroxetin als Antidepressivum der selektiven Serotonin-Reuptake-Inhibitoren ist bei depressiven Erkrankungen, Zwangsstörungen, Panikstörungen und (generalisierten) Angststörungen indiziert.¹²⁹ Eine Überdosierung von Paroxetin äußert sich vornehmlich in einem Serotoninsyndrom.^{119,130} Hierbei handelt es sich um einen akuten Symptomkomplex, der sich vielfältig und rasch beginnend manifestiert.¹³¹ Oft ähneln die Symptome grippalen Infekten mit Tachykardie, Hypertonie und Hyperthermie. Hinzu kommen Mydriasis, Nausea, Erbrechen, Myoklonien, Ataxien, Konvulsionen und Tremor bis hin zum Delir. Bisher gibt es kein spezifisches Antidot für therapiepflichtige Überdosierungen von Paroxetin. Vielmehr gilt die symptomatische Therapie unter allgemein intensiv-medizinischer Überwachung als Leittherapie. Aufgrund des möglichen Serotoninsyndroms stellt Paroxetin eine diskussionswürdige Begründung für eine kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD in akuten Intoxikationssituationen dar. Andererseits weist Paroxetin eine große therapeutische Breite auf und gilt im Falle einer Intoxikation in der Literatur unter intensiv-medizinischer Versorgung als gut behandelbar¹³², sodass es keine harte Indikation für eine kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD in akuten Intoxikationssituationen darstellt.

Opipramol ist als trizyklisches Antidepressivum zur Therapie von Depressionen, die von Angststörungen, Nervosität und Schlafstörungen begleitet werden, indiziert. Außerdem kann es zur Behandlung psycho-vegetativer Symptome zu Beginn der Menopause verwendet werden. Eine Überdosierung von Opipramol stellt sich durch neuro-psychischen Veränderungen wie Schläfrigkeit, Benommenheit bis hin zum Stupor dar. Es können sich auch Schlaflosigkeit, Unruhe und verstärkte Angst ausbilden. Zur kardiovaskulären Symptomatik können Hypotonie, Tachy- (oder Bradykardie) und EKG-Veränderungen gehören.¹¹⁹ Für eine Intoxikation mit Opipramol gibt es bisher kein etabliertes Antidot, obwohl es bereits Ansätze gibt durch Liposomen Opipramol im Plasma des Patienten zu binden und somit in inaktiver, gebundener Form zu eliminieren.¹³³ Wieder ist die allgemein intensiv-medizinische Betreuung der Goldstandard. Opipramol ist eine häufig nachgewiesene Substanz in Fällen einer

akzidentiellen oder suizidalen Intoxikation.¹³⁴ Da Opipramol als trizyklisches Antidepressivum durch kommerziell erhältliche Immunassays erfasst wird, kann im Intoxikationsfall die Verwendung eines solchen einen Hinweis, zumindest auf das Vorhandensein eines trizyklischen Antidepressivums, geben und kann somit einer kombinierten Analyse über GC/MSD und GC/NPD zur weiterführenden Diagnostik überlegen sein.

Isradipin und Nitrendipin, als Calciumantagonisten vom Dihydropyridin-Typ, sind zur Therapie der essentiellen Hypertonie indiziert. Intoxikationen äußern sich vordergründig durch kardiovaskuläre Wirkungen in Form von palpatorischen Tachykardien oder seltener Bradykardien, ventrikulären Arrhythmien und Hypotonien mit Synkopen/Präsynkopen. Seltener kann es zu Bronchospasmen kommen¹¹⁹ oder zu einer dynamischen Herzinsuffizienz.¹³⁵ Die intensiv-medizinische Überwachung zählt auch hier als Goldstandard in der Versorgung des Patienten. Zu den einzigen, spezifischen Maßnahmen bei einer Intoxikation mit Calciumantagonisten zählen bei schwerer Bradykardie (HF < 40/min.) oder Hypotonie (RR syst. < 80 mmHg) die zusätzliche Applikation von Calcium sowie Insulin/Glukagon i.v..^{120,136} Da die Empfehlung dieser spezifischen Maßnahmen allerdings keinen hohen Evidenzgrad hat^{137,138}, es bisher nur wenige beschriebene Intoxikationsfälle in der Literatur gibt¹³⁹ und die therapeutische Breite für Isradipin groß ist bzw. für Nitrendipin keine niedrigste toxische Konzentration beschrieben wurde³⁹, stellen Isradipin und Nitrendipin keine Begründung für eine kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD in akuten Intoxikationssituationen dar.

Pregabalin wird als γ -Aminobuttersäure-Analogon zur Behandlung peripherer und zentraler, neuropathischer Schmerzen, bei generalisierten Angststörungen und zur supportiven Therapie bei Epilepsien mit partiellen Anfällen verwendet.¹⁴⁰ Bei einer Überdosierung dominieren zentral-neuronale Symptome wie Lethargie, Somnolenz, Apathie, Verwirrtheit und Sedierung.¹¹⁹ Weiterhin ist beschrieben, dass Pregabalin kardiale Wirkungen in Form von Tachykardien und AV-Blöcke 1° verursacht.^{141,142} Neben der allgemeinen, intensiv-medizinischen Betreuung, gibt es keine spezifische Behandlung bei einer Überdosierung von Pregabalin. Allerdings sind Therapien mit Hämodialyse beschrieben worden, wobei die Detektion der Substanz über HPLC erfolgte.¹⁴³ Weiterhin erklärt die Herstellerfirma, dass es keinen in der Literatur beschriebenen Fall gibt, bei dem Pregabalin als Todesursache festgestellt wurde.¹⁴⁴

Unter diesen Aspekten stellt Pregabalin keine Begründung für eine kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD in akuten Intoxikationssituationen dar.

Sildenafil als Phosphodiesterase-V-Hemmer ist zur Behandlung erektiler Dysfunktionen und bei pulmonal arterieller Hypertonie zur Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit indiziert. Sildenafil gilt in der Literatur als wenig relevant in Bezug auf Intoxikationsversuche.¹⁴⁵ Da es dennoch einen Bericht über eine Intoxikation mit letalem Ausgang gibt¹⁴⁶ und es als Life-Style-Substanz häufig verwendet wird, wurde Sildenafil mit in diese Arbeit aufgenommen. Symptome einer Überdosierung sind palpatorische Tachykardien, Hypo- oder Hypertonien und folgende Somnolenz.¹¹⁹ Zusätzliche, gegebenenfalls zu therapierende Symptome stellen der Priapismus und eine prolongierte Erektion dar.¹⁴⁷ Die allgemein intensivmedizinische Betreuung gilt im Falle einer Intoxikation mit Sildenafil ebenfalls als Standard. Nachdem es in der Literatur nur wenige Berichte über komplizierte Überdosierungen und keine beschriebene, niedrigste toxische Konzentration³⁹ gibt, stellt Sildenafil keine Begründung für eine kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD in akuten Intoxikationssituationen dar.

6. Schlussfolgerung und Thesen

6. A Schlussfolgerung

Es ist möglich durch kombinierte GC/MSD- und GC/NPD-Detektion von Plasmaproben eine höhere Anzahl von potentiell toxischen Substanzen zu erkennen als bei alleiniger Detektion über GC/MSD, da die meisten Substanzen Stickstoff im Molekül enthalten. Ein Vorteil bei der Analyse über GC/NPD stellt das Nichtdetektieren endogener Substanzen, wie Cholesterin, dar. Somit kann die Detektion von Substanzen, die zeitlich um diese endogenen Substanzen koeluieren über GC/NPD einfacher sein. Von den sieben der 145 untersuchten Substanzen, die in dieser Arbeit aus Plasma extrahiert über GC/NPD zusätzlich zu GC/MSD bei niedrigster toxischer Konzentration detektiert wurden, ist nur Theophyllin von hoher toxikologischer Relevanz und Paroxetin aufgrund eines möglichen Serotoninsyndroms als diskussionswürdig zu erachten. Aufgrund des zeitlichen Mehraufwandes bei der Erkennung von Substanzen über GC/NPD, dem Fehlen einer raschen und sicheren Identifikation bei GC/NPD-Analytik und dem Bestehen von alternativen Nachweismethoden für Theophyllin bzw. dem Fehlen eines spezifischen Antidots für Paroxetin in begründeten Intoxikationsfällen, ergibt sich durch die vorliegende Arbeit bei der Anwendung eines modernen GC/MSD keine Empfehlung für eine kombinierte Verwendung von GC/MSD und GC/NPD zur qualitativen Analyse in akut klinisch-toxikologischen Notfallsituationen mit unbekannten Substanzen.

6. B Thesen

- 1.) Gaschromatographische Analysen sind Standard zur Identifikation von unbekannten Substanzen bei akuter Intoxikation.
- 2.) Schwerflüchtige und thermolabile Moleküle stellen Limitationen der Analyse über gaschromatographische Verfahren dar.
- 3.) Durch Derivatisierungsreaktionen können diese Limitationen teilweise umgangen werden, verlängern allerdings die Analysezeit.
- 4.) Bei obersten therapeutischen Konzentrationen von in dieser Arbeit verwendeten Substanzen ist die Detektion über GC/NPD sensitiver als über GC/MSD.
- 5.) Bei niedrigsten toxischen Konzentrationen aus Plasma extrahierter Substanzen wurden über GC/MSD mehr Substanzen detektiert als über GC/NPD.
- 6.) Durch kombinierte Detektion über GC/MSD und GC/NPD wurden mehr Substanzen detektiert als bei alleiniger Analyse über GC/MSD.
- 7.) Über GC/NPD werden endogene Substanzen, die keine Stickstoff- oder Phosphoratome im Molekül tragen, nicht detektiert.
- 8.) Aufgrund des Fehlens einer sicheren Identifikation nach GC/NPD besteht ein zeitlich deutlicher Mehraufwand zur Substanzerkennung entsprechender Peaks durch weitere Analysen.
- 9.) Theophyllin und Paroxetin stellen die einzigen toxikologisch relevanten bzw. diskutablen Substanzen dar, welche in niedrigster toxischer Konzentration über GC/NPD aber nicht über GC/MSD erkannt wurde.
- 10.) In akut klinisch-toxikologischen Notfallsituationen mit unbekannten Substanzen ist die kombinierte Analyse über GC/MSD und GC/NPD nicht empfehlenswerter als die alleinige Analyse über GC/MSD.

7. Literaturverzeichnis

- 1 E. W. Boyer and M. W. Shannon, Which drug tests in medical emergencies?, *Clinical chemistry*, 2003, **49**, 353–354.
- 2 M. Tenenbein, Do you really need that emergency drug screen?, *Clinical toxicology*, 2009, **47**, 286–291.
- 3 M. Grapp, H. H. Maurer and H. Desel, Systematic forensic toxicological analysis by GC-MS in serum using automated mass spectral deconvolution and identification system, *Drug testing and analysis*, 2016, **8**, 816–825.
- 4 H. H. Maurer, Demands on scientific studies in clinical toxicology, *Forensic science international*, 2007, **165**, 194–198.
- 5 H. H. Maurer, Analytical toxicology, *Experientia Supplementum*, 2010, **100**, 317–337.
- 6 M. R. Meyer, J. Welter, A. A. Weber, H. H. Maurer, Development, validation, and application of a fast and simple GC-MS method for determination of some therapeutic drugs relevant in emergency toxicology, *Therapeutic drug monitoring*, 2011, **33**, 649–653.
- 7 S. Broecker, S. Herre, B. Wüst, J. Zweigenbaum, F. Pragst, Development and practical application of a library of CID accurate mass spectra of more than 2,500 toxic compounds for systematic toxicological analysis by LC-QTOF-MS with data-dependent acquisition, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, **400**, 101–117.
- 8 K. L. Lynch, A. R. Breaud, H. Vandenberghe, A. H. B. Wu and W. Clarke, Performance evaluation of three liquid chromatography mass spectrometry methods for broad spectrum drug screening, *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 2010, **411**, 1474–1481.
- 9 H. H. Maurer, Position of chromatographic techniques in screening for detection of drugs or poisons in clinical and forensic toxicology and/or doping control, *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2004, **42**, 1310–1324.
- 10 H. H. Maurer, How can analytical diagnostics in clinical toxicology be successfully performed today?, *Therapeutic drug monitoring*, 2012, **34**, 561–564.
- 11 D. Remane, M. R. Meyer, D. K. Wissenbach, H. H. Maurer, Ultra high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric multi-analyte procedure for target screening and quantification in human blood plasma, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, **401**, 1341–1352.
- 12 V. Viette, D. Guilleme, R. Mylonas, Y. Mauron, M. Fathi, S. Rudaz, D. Hochstrasser and J.-L. Veuthey, A multi-target screening analysis in human plasma using fast liquid chromatography-hybrid tandem mass spectrometry (Part I), *Clinical biochemistry*, 2011, **44**, 32–44.
- 13 V. Viette, D. Guilleme, R. Mylonas, Y. Mauron, M. Fathi, S. Rudaz, D. Hochstrasser and J.-L. Veuthey, A multi-target screening analysis in human plasma using fast liquid chromatography-hybrid tandem mass spectrometry (Part II), *Clinical biochemistry*, 2011, **44**, 45–53.
- 14 A. H. B. Wu, C. McKay, L. A. Broussard, R. S. Hoffman, T. C. Kwong, T. P. Moyer, E. M. Otten, S. L. Welch and P. Wax, National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines, *Clinical chemistry*, 2003, **49**, 357–379.
- 15 G. M. Meyer, H. H. Maurer, M. R. Meyer, Multiple stage MS in analysis of plasma, serum, urine and in vitro samples relevant to clinical and forensic toxicology, *Bioanalysis*, 2016, **8**, 457–481.
- 16 I. Ojanperä, M. Kolmonen, A. Pelander, Current use of high-resolution mass spectrometry in drug screening relevant to clinical and forensic toxicology and doping control, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2012, **403**, 1203–1220.
- 17 M. R. Meyer, F. T. Peters, H. H. Maurer, Automated mass spectral deconvolution and identification system for GC-MS screening for drugs, poisons, and metabolites in urine, *Clinical chemistry*, 2010, **56**, 575–584.
- 18 B. Kolb, *Gaschromatographie in Bildern*, John Wiley & Sons, Hoboken, 2. Auflage, 2012.
- 19 W. Gottwald, *GC für Anwender*, Wiley-VCH, Weinheim, 1995.
- 20 M. Thevis, Y. Schrader, A. Thomas, G. Sigmund, H. Geyer, W. Schänzer, Analysis of confiscated black market drugs using chromatographic and mass spectrometric approaches, *Journal of analytical toxicology*, 2008, **32**, 232–240.
- 21 S. Dresen, N. Ferreiros, H. Gnann, R. Zimmermann, W. Weinmann, Detection and identification of 700 drugs by multi-target screening with a 3200 Q TRAP LC-MS/MS system and library searching, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2010, **396**, 2425–2434.
- 22 G. M. J. Meyer, A. A. Weber, H. H. Maurer, Development and validation of a fast and simple multi-analyte procedure for quantification of 40 drugs relevant to emergency toxicology using GC-MS and one-point calibration, *Drug testing and analysis*, 2014, **6**, 472–481.
- 23 M. R. Meyer, A. A. Weber, H. H. Maurer, A validated GC-MS procedure for fast, simple, and cost-effective quantification of glycols and GHB in human plasma and their identification in urine and plasma developed for emergency toxicology, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, **400**, 411–414.
- 24 H. H. Maurer, Mass Spectrometry for Research and Application in Therapeutic Drug Monitoring or Clinical and Forensic Toxicology, *Therapeutic drug monitoring*, 2018.

- 25 O. Gonzalez, R. M. Alonso, N. Ferreiros, W. Weinmann, R. Zimmermann, S. Dresen, Development of an LC-MS/MS method for the quantitation of 55 compounds prescribed in combined cardiovascular therapy, *Journal of chromatography B*, 2011, **879**, 243–252.
- 26 D. Remane, M. R. Meyer, D. K. Wissenbach, H. H. Maurer, Full validation and application of an ultra high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric procedure for target screening and quantification of 34 antidepressants in human blood plasma as part of a comprehensive multi-analyte approach, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, **400**, 2093–2107.
- 27 H. H. Maurer, K. Pfleger, A. A. Weber, *Mass spectral and GC data of drugs, poisons, pesticides, pollutants and their metabolites*, Wiley-VCH, Weinheim, 4. Auflage, 2011.
- 28 M. A. Zayed, M. F. Hawash, M. A. Fahmey, A. M. M. El-Gizouli, Investigation of ibuprofen drug using mass spectrometry, thermal analyses, and semi-empirical molecular orbital calculation, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2012, **108**, 315–322.
- 29 Y. Tao, D. Chen, G. Yu, H. Yu, Y. Pan, Y. Wang, L. Huang, Z. Yuan, Simultaneous determination of lincomycin and spectinomycin residues in animal tissues by gas chromatography-nitrogen phosphorus detection and gas chromatography-mass spectrometry with accelerated solvent extraction, *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 2011, **28**, 145–154.
- 30 M. A. Martínez, C. Sánchez de la Torre, E. Almarza, A comparative solid-phase extraction study for the simultaneous determination of fluoxetine, amitriptyline, nortriptyline, trimipramine, maprotiline, clomipramine, and trazodone in whole blood by capillary gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus detection, *Journal of analytical toxicology*, 2003, **27**, 353–358.
- 31 M. A. Martínez, C. Sánchez de la Torre, E. Almarza, A comparative solid-phase extraction study for the simultaneous determination of fluvoxamine, mianserin, doxepin, citalopram, paroxetine, and etoperidone in whole blood by capillary gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus detection, *Journal of analytical toxicology*, 2004, **28**, 174–180.
- 32 C. Sánchez de la Torre, M. A. Martínez, E. Almarza, Determination of several psychiatric drugs in whole blood using capillary gas-liquid chromatography with nitrogen phosphorus detection, *Forensic science international*, 2005, **155**, 193–204.
- 33 A. Jarek, M. Wójtowicz, D. Kwiatkowska, M. Kita, E. Turek-Lepa, K. Chajewska, S. Lewandowska-Pachecka, A. Pokrywka, The prevalence of trimetazidine use in athletes in Poland, *Drug testing and analysis*, 2014, **6**, 1191–1196.
- 34 J. Jang, M. M. Rahman, A. M. Abd El-Aty, A.-Y. Ko, J.-H. Park, J.-H. Choi, K. H. Park, A. Yang, Y. M. Seo, J.-H. Shim, Analysis of etoxazole in red pepper after major modification of QuEChERS for gas chromatography-nitrogen phosphorus detection, *Biomedical chromatography*, 2014, **28**, 767–773.
- 35 H. Onnerud, F. Bassiouny, M. Abdel-Rehim, Chromatographic behavior of bupivacaine and five of its major metabolites in human plasma, utilizing solid-phase extraction and capillary gas chromatography, *Journal of chromatographic science*, 2010, **48**, 294–298.
- 36 G. Burillo-Putze, P. Munne, A. Dueñas, M. A. Pinillos, J. M. Naveiro, J. Cobo, J. Alonso, National multicentre study of acute intoxication in emergency departments of Spain, *European journal of emergency medicine*, 2003, **10**, 101–104.
- 37 J. Schipper, Klinische Symptome und intensivmedizinische Versorgung bei akuten Intoxikationen - Analyse einer Patientenstichprobe der internistischen Intensivstation der Universitätsmedizin Rostock aus den Jahren 2004 bis 2011 unter Verwendung des Poisoning Severity Scores und des Therapeutic Intervention Scoring Systems, *Inauguraldissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock*, Rostock, 2013.
- 38 K. Michel, P. Ballinari, U. Bille-Brahe, T. Bjerke, P. Crepet, D. de Leo, C. Haring, K. Hawton, A. Kerkhof, J. Lönnqvist, I. Querejeta, E. Salander-Renberg, A. Schmidtke, B. Temesvary, D. Wasserman, Methods used for parasuicide, *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, 2000, **35**, 156–163.
- 39 M. Schulz, S. Iwersen-Bergmann, H. Andresen, A. Schmoldt, Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics, *Critical care*, 2012, **16**, R136.
- 40 M. J. O'Neil, ed., *The Merck index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, RSC Publ. Royal Soc. of Chemistry, Cambridge, 15. Auflage., 2013.
- 41 U. Schwabe, D. Paffrath, *Arzneiverordnungs-Report 2015. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*, Springer, Berlin, 2015.
- 42 D. Prasa, komm. Leiterin, Gemeinsames Giftinformationszentrum der Länder Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen, <https://www.ggiz-erfurt.de/arzneimittel.html>, zuletzt geprüft 6. Oktober 2017.
- 43 *Chem ID-Plus*, <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>, zuletzt geprüft 30. April 2018.
- 44 F. T. Peters, N. Samyn, T. Kraemer, W. J. Riedel, H. H. Maurer, Negative-ion chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry assay for enantioselective measurement of amphetamines in oral fluid, *Clinical chemistry*, 2007, **53**, 702–710.
- 45 L. Paul et al., Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen, *Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (Arbeitskreis Qualitätssicherung)*, 2009.

- 46 Bundesärztekammer, Neufassung der "Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen - Rili-BÄK", *Deutsches Ärzteblatt*, 2014, **38**, 1583-1918.
- 47 D. Müller, H. Desel, Common causes of poisoning, *Deutsches Ärzteblatt International*, 2013, **110**, 690-9.
- 48 O. Dierich, Speichel als alternatives Untersuchungsmaterial zur Drogenanalytik mittels Immunoassay: Ein Vergleich zu verschiedenen Nachweisverfahren im Urin in drogentherapeutischen Einrichtungen, *Dissertation zum Erwerb des Doktorgrade der Medizin an der Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München*, München, 2007.
- 49 A. M. Gressner, T. Arndt, *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2. Auflage, 2013.
- 50 K. Björnstad, O. Beck, A. Helander, A multi-component LC-MS/MS method for detection of ten plant-derived psychoactive substances in urine, *Journal of chromatography B*, 2009, **877**, 1162–1168.
- 51 R. Ludewig, R. Regenthal, M. Burgkhardt, C. Köppel, W. Poelchen, H.-H. Wellhöner, *Akute Vergiftungen und Arzneimittelüberdosierungen. Schnell- und Hintergrundinformationen zu Erkennung, Verlauf, Behandlung und Verhütung*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 11. Auflage, 2015.
- 52 L. Schönberg, T. Grobosch, D. Lampe, C. Kloft, New screening method for basic compounds in urine by on-line extraction-high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection, *Journal of chromatography A*, 2006, **1134**, 177–185.
- 53 H. Günzler, A. M. Bahadir et al., *Analytiker-Taschenbuch*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2000.
- 54 H. D. Bruhn, V. Armstrong et al., *LaborMedizin. Indikationen, Methodik und Laborwerte, Pathophysiologie und Klinik*, Schattauer, Stuttgart, 2. Auflage, 2008.
- 55 FTC München GmbH, *Blut/Serum*, <http://www.ftc-muenchen.de/home/blut-serum>, zuletzt geprüft 5. Mai 2018.
- 56 G. Schwedt, T. C. Schmidt, O. J. Schmitz, *Analytische Chemie. Grundlagen, Methoden und Praxis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2017.
- 57 R. J. Flanagan, Developing an analytical toxicology service, *Toxicological reviews*, 2004, **23**, 251–263.
- 58 M. Katselou, S. Athanaselis, P. Nikolaou, A. Dona, C. Spiliopoulou, I. Papoutsis, Development and validation of a GC-MS method for the determination of hydroxyzine and its active metabolite, cetirizine, in whole blood, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2017, **145**, 765–772.
- 59 N. Fernández, N. M. Olivera, G. A. Keller, R. A. Diez, G. Di Girolamo, P. N. Quiroga, Simultaneous quantitation of meperidine, normeperidine, tramadol, propoxyphene and norpropoxyphene in human plasma using solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry, *Rapid communications in mass spectrometry*, 2017, **31**, 2056.
- 60 K. Zhu, B. Gu, M. Kerry, M. Mintert, J. Luong, M. Pursch, Elimination of N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide interference by base treatment in derivatization gas chromatography mass spectrometry determination of parts per billion of alcohols in a food additive, *Journal of chromatography A*, 2017, **1490**, 74–79.
- 61 N. G. Todua, A. I. Mikaia, Mass spectrometry of analytical derivatives. 2. "Ortho" and "Para" effects in electron ionization mass spectra of derivatives of hydroxy, mercapto and amino benzoic acids, *Mass-spektrometria*, 2016, **13**, 83–94.
- 62 A. Orfanidis, O. Mastrogianni, A. Koukou, G. Psarros, H. Gika, G. Theodoridis, N. Raikos, A GC-MS method for the detection and quantitation of ten major drugs of abuse in human hair samples, *Journal of chromatography B*, 2017, **1047**, 141–150.
- 63 C. Christou, H. G. Gika, N. Raikos, G. Theodoridis, GC-MS analysis of organic acids in human urine in clinical settings, *Journal of chromatography B*, 2014, **964**, 195–201.
- 64 J. La Nasa, F. Modugno, M. Aloisi, A. Lluveras-Tenorio, I. Bonaduce, Development of a GC/MS method for the qualitative and quantitative analysis of mixtures of free fatty acids and metal soaps in paint samples, *Analytica chimica acta*, 2018, **1001**, 51–58.
- 65 S. Milkovska-Stamenova, R. Schmidt, A. Frolov, C. Birkemeyer, GC-MS Method for the Quantitation of Carbohydrate Intermediates in Glycation Systems, *Journal of agricultural and food chemistry*, 2015, **63**, 5911–5919.
- 66 H. Zhang, Z. Wang, O. Liu, Development and validation of a GC-FID method for quantitative analysis of oleic acid and related fatty acids, *Journal of pharmaceutical analysis*, 2015, **5**, 223–230.
- 67 E. D. Dodds, M. R. McCoy, L. D. Rea, J. M. Kennish, Gas chromatographic quantification of fatty acid methyl esters: flame ionization detection vs. electron impact mass spectrometry, *Lipids*, 2005, **40**, 419–428.
- 68 P. Nikolaou, I. Papoutsis, A. Dona, C. Spiliopoulou, S. Athanaselis, Development and validation of a GC/MS method for the simultaneous determination of levetiracetam and lamotrigine in whole blood, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2015, **102**, 25–32.
- 69 A. Khraiweh, I. Papoutsis, P. Nikolaou, C. Pistos, C. Spiliopoulou, S. Athanaselis, Development and validation of an EI-GC/MS method for the determination of sertraline and its major metabolite desmethyl-sertraline in blood, *Journal of chromatography B*, 2011, **879**, 2576–2582.

- 70 D. Montenarh, M. Hopf, H. H. Maurer, P. Schmidt, A. H. Ewald, Detection and quantification of benzodiazepines and Z-drugs in human whole blood, plasma, and serum samples as part of a comprehensive multi-analyte LC-MS/MS approach, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2014, **406**, 803–818.
- 71 D. Montenarh, M. Hopf, H. H. Maurer, P. Schmidt, A. H. Ewald, Development and validation of a multi-analyte LC-MS/MS approach for quantification of neuroleptics in whole blood, plasma, and serum, *Drug testing and analysis*, 2016, **8**, 1080–1089.
- 72 D. Montenarh, M. Hopf, S. Warth, H. H. Maurer, P. Schmidt, A. H. Ewald, A simple extraction and LC-MS/MS approach for the screening and identification of over 100 analytes in eight different matrices, *Drug testing and analysis*, 2015, **7**, 214–240.
- 73 J. A. Michely, H. H. Maurer, A multi-analyte approach to help in assessing the severity of acute poisonings - Development and validation of a fast LC-MS/MS quantification approach for 45 drugs and their relevant metabolites with one-point calibration, *Drug testing and analysis*, 2018, **10**, 164–176.
- 74 J. Bhatt, S. Singh, G. Subbaiah, B. Shah, S. Kambli, S. Ameta, A rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the estimation of amlodipine in human plasma, *Biomedical chromatography*, 2007, **21**, 169–175.
- 75 K. K. Pandya, M. Satia, T. P. Gandhi, I. A. Modi, R. I. Modi, B. K. Chakravarthy, Detection and determination of total amlodipine by high-performance thin-layer chromatography, *Journal of chromatography B*, 1995, **667**, 315–320.
- 76 Y. Zhu, F. Wang, Q. Li, M. Zhu, A. Du, W. Tang, W. Chen, Amlodipine metabolism in human liver microsomes and roles of CYP3A4/5 in the dihydropyridine dehydrogenation, *Drug metabolism and disposition*, 2014, **42**, 245–249.
- 77 Y.-Y. Zhan, B.-Q. Liang, X.-Y. Li, E.-M. Gu, D.-P. Dai, J.-P. Cai, G.-X. Hu, The effect of resveratrol on pharmacokinetics of arpiprazole in vivo and in vitro, *Xenobiotica*, 2016, **46**, 439–444.
- 78 F. Broccatelli, E. Carosati, A. Neri, M. Frosini, L. Goracci, T. I. Oprea, G. Cruciani, A novel approach for predicting P-glycoprotein (ABCB1) inhibition using molecular interaction fields, *Journal of medicinal chemistry*, 2011, **54**, 1740–1751.
- 79 H. Nishimuta, J. B. Houston, A. Galetin, Hepatic, intestinal, renal, and plasma hydrolysis of prodrugs in human, cynomolgus monkey, dog, and rat, *Drug metabolism and disposition*, 2014, **42**, 1522–1531.
- 80 S. Süß, W. Seiler, C. Hiemke, G. Schöllnhammer, H. Wetzel, A. Hillert, Determination of benperidol and its reduced metabolite in human plasma by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection, *Journal of chromatography A*, 1991, **565**, 363–373.
- 81 W. Seiler, H. Wetzel, A. Hillert, G. Schöllnhammer, M. Langer, U. Barlage, C. Hiemke, Pharmacokinetics and bioavailability of benperidol in schizophrenic patients after intravenous and two different kinds of oral application, *Psychopharmacology*, 1994, **116**, 457–463.
- 82 E. S. Jeong, S.-H. Kim, E.-J. Cha, K. M. Lee, H. J. Kim, S.-W. Lee, O.-S. Kwon, J. Lee, Simultaneous analysis of 210 prohibited substances in human urine by ultrafast liquid chromatography/tandem mass spectrometry in doping control, *Rapid communications in mass spectrometry*, 2015, **29**, 367–384.
- 83 B. T. Gufford, J. B. L. Lu, I. F. Metzger, D. R. Jones, Z. Desta, Stereoselective Glucuronidation of Bupropion Metabolites In Vitro and In Vivo, *Drug metabolism and disposition*, 2016, **44**, 544–553.
- 84 T. H. Tsai, C. F. Chen, Measurement and pharmacokinetic analysis of buspirone by means of brain microdialysis coupled to high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *Journal of chromatography A*, 1997, **762**, 269–273.
- 85 R. Hajjo, C. M. Grulke, A. Golbraikh, V. Setola, X.-P. Huang, B. L. Roth, A. Tropsha, Development, validation, and use of quantitative structure-activity relationship models of 5-hydroxytryptamine (2B) receptor ligands to identify novel receptor binders and putative valvulopathic compounds among common drugs, *Journal of medicinal chemistry*, 2010, **53**, 7573–7586.
- 86 R. Hajjo, V. Setola, B. L. Roth, A. Tropsha, Chemocentric informatics approach to drug discovery, *Journal of medicinal chemistry*, 2012, **55**, 5704–5719.
- 87 L. Huang, J. Liu, W. Shan, B. Liu, A. Shi, X. Li, The asymmetric synthesis of (R,R)-formoterol via transfer hydrogenation with polyethylene glycol bound Rh catalyst in PEG2000 and water, *Chirality*, 2010, **22**, 206–211.
- 88 Y.-Q. Xia, J. Lau, T. Olah, M. Jemal, Targeted quantitative bioanalysis in plasma using liquid chromatography/high-resolution accurate mass spectrometry, *Rapid communications in mass spectrometry*, 2011, **25**, 2863–2878.
- 89 C. Sun, P. Zhu, N. Hu, D. Wang, Y. Pan, Differentiation of lisinopril and its RSS diastereomer by liquid chromatography combined with collision-induced dissociation mass spectrometry, *Journal of mass spectrometry*, 2010, **45**, 89–96.
- 90 H.-C. Liu, R. H. Liu, H.-O. Ho, D.-L. Lin, Development of an information-rich LC-MS/MS database for the analysis of drugs in postmortem specimens, *Analytical chemistry*, 2009, **81**, 9002–9011.
- 91 X. Hu, T. Lan, D. Dai, R.-A. Xu, L. Yuan, Q. Zhou, Y. Li, J. Cai, G. Hu, Evaluation of 24 CYP2D6 Variants on the Metabolism of Nebivolol In Vitro, *Drug metabolism and disposition*, 2016, **44**, 1828–1831.

- 116 Ulrich Helmich, Cholesterin, <http://www.u-helmich.de/el/03-Lipide/7-Cholesterin/index37.html>, zuletzt geprüft 5. Mai 2018.
- 117 C. Vogelmeier, R. Buhl, O. Burghuber, C.-P. Criée, S. Ewig, J. Godnic-Cvar, S. Hartl, F. Herth, P. Kardos, K. Kenn, D. Nowak, K. F. Rabe, M. Studnicka, H. Watz, T. Welte, W. Windisch, H. Worth, Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD), *Pneumologie*, 2018, **72**, 253–308.
- 118 S. E. McKay, C. A. Howie, A. H. Thomson, B. Whiting, G. J. Addis, Value of theophylline treatment in patients handicapped by chronic obstructive lung disease, *Thorax*, 1993, **48**, 227–232.
- 119 R. C. Baselt, *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*, Chemical Toxicology Institute, Foster City, California, 5. Auflage, 2000.
- 120 C. Degrandi, M. von Dechend, C. Rauber-Lüthy, Therapieoptionen bei Intoxikationen mit Calciumkanal- und Beta-Blockern, *tox info suisse*, 2016.
- 121 N. A. Minton, J. A. Henry, Treatment of theophylline overdose, *The American Journal of Emergency Medicine*, 1996, **14**, 606–612.
- 122 F. P. Paloucek and K. A. Rodvold, Evaluation of theophylline overdoses and toxicities, *Annals of Emergency Medicine*, 1988, **17**, 135–144.
- 123 J.-y. Yu, Y. Lin, Clinical value comparison between chemiluminescent immunoassay and immunoradiometric assay in detecting TSH in serum, *Bulletin of Hunan Medical University*, 2003, **28**, 275–277.
- 124 T. A. P. Fernandes, J. P. Aguiar, A. I. Fernandes, J. F. Pinto, Quantification of theophylline or paracetamol in milk matrices by high-performance liquid chromatography, *Journal of pharmaceutical analysis*, 2017, **7**, 401–405.
- 125 R. V. S. Nirogi, V. N. Kandikere, M. Shukla, K. Mudigonda, D. R. Ajjala, A simple and rapid HPLC/UV method for the simultaneous quantification of theophylline and etofylline in human plasma, *Journal of chromatography B*, 2007, **848**, 271–276.
- 126 Z. Feng, Z. Li, B. Sui, G. Xu, T. Xia, Serological diagnosis of infectious mononucleosis by chemiluminescent immunoassay using capsid antigen p18 of Epstein-Barr virus, *Clinica chimica acta*, 2005, **354**, 77–82.
- 127 M.-x. Zhou, C.-y. Guan, G. Chen, X.-y. Xie, S.-h. Wu, Determination of theophylline concentration in serum by chemiluminescent immunoassay, *Journal of Zhejiang University*, 2005, **6**, 1148–1152.
- 128 H. Jiang, K. Ling, X. Tao, Q. Zhang, Theophylline detection in serum using a self-assembling RNA aptamer-based gold nanoparticle sensor, *Biosensors & bioelectronics*, 2015, **70**, 299–303.
- 129 S. Hoc, Neues Präparat für vier Indikationen, *Deutsches Ärzteblatt*, 2001, **41**, 2669.
- 130 Fachinformation Paroxetin 20 mg, AbZ Pharma-GmbH, 2015.
- 131 C. R. FitzSimmons, S. Metha, Serotonin syndrome caused by overdose with paroxetine and moclobemide, *Journal of accident & emergency medicine*, 1999, **16**, 293–295.
- 132 A. K. Gupta, P. Verma, S. K. Praharaj, D. Roy, A. Singh, Paroxetine overdose, *Indian journal of psychiatry*, 2005, **47**, 167–168.
- 133 B. A. Howell, A. Chauhan, Binding of imipramine, dosulepin, and opipramol to liposomes for overdose treatment, *Journal of pharmaceutical sciences*, 2009, **98**, 3718–3729.
- 134 G. Drasch, F. Dahlmann, L. von Meyer, G. Roider, W. Eisenmenger, Frequency of different anti-depressants associated with suicides and drug deaths, *International journal of legal medicine*, 2008, **122**, 115–121.
- 135 D. Ganten, P. J. Mulrow, *Pharmacology of Antihypertensive Therapeutics*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1990.
- 136 Core Safety Profile of Nitrendipine, http://www.bfarm.de/SharedDocs/Downloads/EN/Drugs/vigilance/PSURs/csp/m-p/nitrendipine.pdf?__blob=publicationFile&v=1, zuletzt geprüft 5. Mai 2018.
- 137 M. St-Onge, P.-A. Dubé, S. Gosselin, C. Guimont, J. Godwin, P. M. Archambault, J.-M. Chauny, A. J. Frenette, M. Darveau, N. Le Sage, J. Poitras, J. Provencher, D. N. Juurlink, R. Blais, Treatment for calcium channel blocker poisoning, *Clinical toxicology*, 2014, **52**, 926–944.
- 138 R. Wachowiak, B. Strach, P. Lopatka, Toxicological analysis of selected 1,4-dihydropyridine calcium channel blockers in the diagnosis of intoxications, *Archiwum medycyny sadowej i kryminologii*, 2005, **55**, 47–54.
- 139 M. J. Romano, A. Gaylor, C. J. Sang, Life-threatening isradipine poisoning in a child, *Pharmacotherapy*, 2002, **22**, 766–770.
- 140 C. Toth, Pregabalin, *Therapeutic advances in drug safety*, 2014, **5**, 38–56.
- 141 D. M. Wood, D. J. Berry, G. Glover, J. Eastwood, P. I. Dargan, Significant pregabalin toxicity managed with supportive care alone, *Journal of medical toxicology*, 2010, **6**, 435–437.
- 142 L. Yoo, D. Matalon, R. S. Hoffman, D. S. Goldfarb, Treatment of pregabalin toxicity by hemodialysis in a patient with kidney failure, *American journal of kidney diseases*, 2009, **54**, 1127–1130.
- 143 D. Berry, C. Millington, Analysis of pregabalin at therapeutic concentrations in human plasma/serum by reversed-phase HPLC, *Therapeutic drug monitoring*, 2005, **27**, 451–456.
- 144 Fachinformation zu Lyrica®, Pfizer Canada Inc, Product Monograph Lyrica, 2016.

- 145 V. Matheeussen, K. E. Maudens, K. Anseeuw, H. Neels, A Non-Fatal Self-Poisoning Attempt with Sildenafil, *Journal of analytical toxicology*, 2015, **39**, 572–576.
- 146 A. Tracqui, A. Miras, A. Tabib, J. S. Raul, B. Ludes, D. Malicier, Fatal overdose with sildenafil citrate (Viagra), *Human & experimental toxicology*, 2002, **21**, 623–629.
- 147 B. K. Wills, C. Albinson, M. Wahl, J. Clifton, Sildenafil citrate ingestion and prolonged priapism and tachycardia in a pediatric patient, *Clinical toxicology*, 2007, **45**, 798–800.

8. Lebenslauf

Im Sinne des Datenschutzes nicht enthalten

9. Anhang

Anhang 1

Einzelsubstanzen der Medikamentengruppen der forensischen Toxikologie der UMR zwischen den Jahren 1998-2012

Benzodiazepine	Antidepressiva	NSAR	Opioide	Neuroleptika	Antiepileptika	Weitere
Diazepam (61)	Doxepin (30)	Paracetamol (34)	Tramadol (17)	Promethazin (14)	Carbamazepin (26)	Diphenhydramin (15)
Midazolam (16)	Citalopram (16)	Ibuprofen (15)	Methadon (13)	Quetiapin (8)	Phenobarbital (4)	Lidocain (12)
Zopiclon (11)	Mirtazapin (15)	Metamizol (12)	Morphin (11)	Clozapin (7)	Lamotrigin (1)	Metoprolol (10)
Zolpidem (7)	Amitriptylin (13)	ASS (6)	Oxycodon (6)	Levomepromazin (5)		Propranolol (6)
Flunitrazepam (5)	Venlafaxin (9)		Codein (4)	Haloperidol (4)		Doxylamin (5)
Nitrazepam (5)	Duloxetin (4)		Fentanyl (4)	Chlorprothixen (3)		Furosemid (3)
Lorazepam (3)	Clomipramin (3)		Buprenorphin (3)	Melperon (3)		Ketamin (3)
Clonazepam (2)	Imipramin (3)		Dihydrocodein (2)	Amisulprid (1)		Digitoxin (2)
Medazepam (2)	Mianserin (3)		Hydromorphon (1)	Pipamperon (1)		Barbital (1)
Bromazepam (1)	Opipramol (3)			Trazodon (1)		Clonidin (1)
	Trimipramin (3)					Fluvastatin (1)
	Sertralin (2)					Formaldehyd (1)
	Bupropion (1)					konz. HCl (1)
	Desipramin (1)					Levamisol (1)
	Fluoxetin (1)					Parathion (1)
	Paroxetin (1)					Pentobarbital (1)
						Sildenafil (1)
						Thiopental (1)

Die dargestellte Tabelle listet in Reihenfolge aufsteigender Detektionsereignisse die von der forensischen Toxikologie der UMR detektierten Medikamente zwischen den Jahren 1998-2012 auf. Die in Klammern dargestellten Werte zeigen die absoluten Detektionen an.

Amantadin
(1)
Butylscopolamin
(1)
Captopril
(1)
Chinin
(1)
Chloroquin
(1)
Flecainid
(1)
Furosemid
(1)
Gallopamil
(1)
Levamisol
(1)
Loperamid
(1)
Loratadin
(1)
Methotrexat
(1)
Metronidazol
(1)
Sildenafil
(1)
Sumatriptan
(1)

Die dargestellte Tabelle listet in Reihenfolge aufsteigender Detektionsereignisse die von der klinischen Toxikologie der UMR detektierten Medikamente zwischen den Jahren 2009-2013 auf. Die in Klammern dargestellten Werte zeigen die absoluten Detektionen an.

n.n.bez. Beschreibt nicht näher definierte Substanzen der jeweiligen Gruppe.

Anhang 3

Substanzhersteller

Substanz	Hersteller
4-Methylamino-Antipyrin	Biozol Diagnostics Vertrieb GmbH (Eching)
Alfentanil	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Alprazolam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Amantadin	Ratiopharm GmbH (Ulm)
Amitriptylin	Bayer (Leverkusen)
Amitriptylinoxid	Bayer (Leverkusen)
Amlodipin	Hexal AG (Holzkirchen)
Aripiprazol	Bristol-Myers Squibb GmbH & Co KGaA (München)
Atenolol	LGC Standards GmbH (Wesel)
Atropin	B. Braun Melsungen AG (Melsungen)
Baclofen	Novartis Pharma GmbH (Zwickau)
Benazepril	
Benperidol	Neuraxpharm Arzneimittel GmbH (Langenfeld)
Biperiden	Neuraxpharm Arzneimittel GmbH (Langenfeld)
Bisoprolol	LGC Standards GmbH (Wesel)
Bromazepam	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Brotizolam	Delpharm Reims (Reims, Frankreich)
Buprenorphin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Bupropion	Aspem Bad Oldesloe GmbH (Bad Oldesloe)
Buspiron	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Butylscopolamin	Haupt Pharma Wülfring GmbH (Gronau/Leine)
Captopril	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Cetirizin	Betapharm (Augsburg)
Chloroquin	Bayer (Leverkusen)
Chlorprothixen	LGC Standards GmbH (Wesel)
Citalopram	H. Lundbeck A/S (Kopenhagen, Dänemark)
Clobazam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Clomethiazol	Nycomed GmbH (Singen)
Clomipramin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Clonazepam	kohlpharma GmbH (Merzig)
Clopidogrel	Sanofi Winthrop Industries (Paris, Frankreich)
Clozapin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Codein	Zentralapotheke der Universitätsmedizin Rostock
Coffein	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Desipramin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Dextrometorphan	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Diazepam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Diclofenac	Hexal AG (Holzkirchen)
Dihydrocodein	LGC Standards GmbH (Wesel)
Diltiazem	LGC Standards GmbH (Wesel)
Dimethoat	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Hamburg)
Dimetinden	Novartis Pharma GmbH (Zwickau)
Diphenhydramin	Hevert-Arzneimittel GmbH & Co. KG (Nussbaum)
Donepezil	LGC Standards GmbH (Wesel)

Substanz	Hersteller
Doxepin	Roche Pharma AG (Mannheim)
Doxylamin	Krewel Meuselbach GmbH (Eitorf)
Duloxetine	lilly Pharma Fertigung und Distribution GmbH (Gießen)
Enalapril	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Ethosuximid	
Etomidat	Janssen-Cilag GmbH (Neuss)
Felodipin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Fentanyl	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Flecainid	Weimer Pharma GmbH (Rastatt)
Flumazenil	hameln pharmaceuticals GmbH (Hameln)
Flunarizin	Ratiopharm GmbH (Ulm)
Fluoxetine	LGC Standards GmbH (Wesel)
Flupentixol	Bayer (Leverkusen)
Fluphenazin	Neuraxpharm Arzneimittel GmbH (Langenfeld)
Flupirtin	AWD.pharma GmbH & Co. KG (Radebeul)
Flurazepam	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Fluspirilen	Janssen-Cilag GmbH (Neuss)
Fluvoxamin	Solvay Duphor B.V. (Wesp, Niederlande)
Formoterol	
Gabapentin	Pfizer (Freiburg im Breisgau)
Gallopamil	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Haloperidol	Janssen-Cilag GmbH (Neuss)
Hydrocodon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Hydromorphon	Mundipharma GmbH (Limburg)
Ibuprofen	Janssen-Cilag GmbH (Neuss)
Imipramin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Isradipin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Ketamin	Inresa Arzneimittel GmbH (Freiburg im Breisgau)
Lamotrigin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Lercanidipin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Levetiracetam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Levomepromazin	Bayer (Leverkusen)
Lisinopril	LGC Standards GmbH (Wesel)
Lorazepam	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Maprotilin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Medazepam	Nycomed GmbH (Singen)
Melperon	Hexal AG (Holzkirchen)
Memantin	Merz Pharma GmbH + Co. KGaA (Frankfurt am Main)
Methadon	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Methylphenidat	LGC Standards GmbH (Wesel)
Metoclopramid	Kali-Chemie Pharma GmbH (Hannover)
Metoprolol	AstraZenaca GmbH (Wedel)
Mianserin	Thiemann Arzneimittel GmbH (Waltrop)
Midazolam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Mirtazapin	N.V. Organon (Oss, Niederlande)
Mitotan	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Moclobemid	LGC Standards GmbH (Wesel)
Morphin	Hexal AG (Holzkirchen)

Substanz	Hersteller
Naloxon	Merckle GmbH (Ulm)
Nebivolol	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Nefopam	3 M Metica (Barken)
Nifedipin	Bayer (Leverkusen)
Nilvadipin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Nimodipin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Nisoldipin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Nitrendipin	Bayer (Leverkusen)
Nordiazepam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Nortilidin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Nortriptylin	LGC Standards GmbH (Wesel)
O-Desmethyl-Venlafaxin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Olanzapin	lilly Pharma Fertigung und Distribution GmbH (Gießen)
Opipramol	Novartis Pharma GmbH (Zwickau)
Oxazepam	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Oxcarbazepin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Oxycodon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Paliperidon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Paracetamol	Bristol-Myers Squibb GmbH & Co KgaA (München)
Paroxetin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Pentobarbital	LGC Standards GmbH (Wesel)
Perazin	Neuraxpharm Arzneimittel GmbH (Langenfeld)
Perphenazin	kohlpharma GmbH (Merzig)
Phenobarbital	LGC Standards GmbH (Wesel)
Phenprocoumon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Phenytoin	Destin Arzneimittel GmbH (Hamburg)
Pipamperon	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Piracetam	UCB Pharma GmbH (Monheim am Rhein)
Piritramid	Janssen-Cilag GmbH (Neuss)
Pregabalin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Primidon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Promethazin	Neuraxpharm Arzneimittel GmbH (Langenfeld)
Propofol	LGC Standards GmbH (Wesel)
Prothipendyl	AWD.pharma GmbH & Co. KG (Radebeul)
Quetiapin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Quinapril	LGC Standards GmbH (Wesel)
Ramipril	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Reboxetin	Pharmacia Italia S.p.A. (Milano, Italien)
Risperidon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Rivastigmin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Salmeterol	LGC Standards GmbH (Wesel)
Sertralin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Sildenafil	LGC Standards GmbH (Wesel)
Sulpirid	Sanofi Winthrop Industries (Paris, Frankreich)
Sultiam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Tapentadol	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Tetrazepam	LGC Standards GmbH (Wesel)
Theophyllin	Nycomed GmbH (Singen)

Substanz	Hersteller
Thiopental	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Tiaprid	Sanofi Aventis Deutschland GmbH (Frankfurt am Main)
Timolol	Chauvin ankerpharm GmbH (Berlin)
Topiramat	LGC Standards GmbH (Wesel)
Tramadol	Merckle GmbH (Ulm)
Tranlycypromin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Trazodon	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Trimipramin	LGC Standards GmbH (Wesel)
Valproinsäure	Sanofi Aventis Deutschland GmbH (Frankfurt am Main)
Venlafaxin	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Verapamil	Abbott GmbH & Co. KG (Wiesbaden)
Zolpidem	Sigma-Aldrich (Darmstadt)
Zopiclon	LGC Standards GmbH (Wesel)
Zuclopenthixol	LGC Standards GmbH (Wesel)

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre ausdrücklich, dass es sich bei der von mir eingereichten schriftlichen Arbeit mit dem Titel

Vergleich zwischen singulärer GC/MSD und kombinierter GC/MSD und GC/NPD zur qualitativen Analyse in akut klinisch-toxikologischen Notfallsituationen mit unbekannter Intoxikationsursache

um eine von mir selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasste Arbeit handelt.

Ich erkläre ausdrücklich, dass ich sämtliche in der oben genannten Arbeit verwendeten fremden Quellen, auch aus dem Internet als solche kenntlich gemacht habe. Insbesondere bestätige ich, dass ich ausnahmslos sowohl bei wörtlich übernommenen Aussagen bzw. unverändert übernommenen Tabellen, Grafiken u.ä. als auch bei in eigenen Worten wiedergegebenen Aussagen bzw. von mir abgewandelten Tabellen, Grafiken u.ä. anderer Autorinnen und Autoren die Quelle angegeben habe.

Mir ist bewusst, dass Verstöße gegen die Grundsätze der Selbstständigkeit als Täuschung betrachtet und entsprechend der Prüfungsordnung geahndet werden.

Ich versichere außerdem, dass ich die eingereichte schriftliche Arbeit nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe und, dass diesem Promotionsverfahren keine endgültig gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind

Offenburg, 31.12.2020

Nils Apel