

Nachweis von Benzodiazepinen in Haaren mittels Kapillarelektrophorese

Michel Yegles und Robert Wennig

Die Kapillarelektrophorese (KE) wurde noch wenig verwendet, um Drogen in Kopfharen zu bestimmen [1]. Bisher wurden nur Kokain und Morphin in Kopfharen mit dieser Methode nachgewiesen [2]. Wir überprüften daher diese Trennmethode für die Bestimmung von Benzodiazepinen und deren Metaboliten (Diazepam, Nordazepam, Oxazepam und Aminoflunitrazepam) in Kopfharen von 7 Drogentoten und verglichen die Ergebnisse mit GC/MS-Werten.

Material und Methoden

Haarproben von 7 Drogentoten wurden mit Wasser und Aceton gewaschen, in Segmente von 3 cm geschnitten und in einer Kugelmühle gemahlen. Die Haarproteine wurden in einem Thiolysepuffer (Thioglykolsäure 0,2 M, Tris 0,2 M, pH 8) aufgeschlossen (Spaltung der Disulfidbrücken). Nach einer Festphasenextraktion (C18 Säulen, Chromabond, Macherey Nagel) wurde der Extrakt im Wasser aufgenommen und mittels Kapillarzonenelektrophorese getrennt: PACE System 5500, Beckman, Kapillare 57 cm x 75 µm, Temperatur 25°C, Spannung 25 kV, Phosphatpuffer pH 2,3 (Analisis, Namur, Belgien), UV Detektion 220 nm (Diode Array Detektor). Als interner Standard diente Nitrazepam.

Ergebnisse

Diazepam, Oxazepam, Nordazepam und ein Metabolit von Flunitrazepam (7-Aminoflunitrazepam) wurden im sauren Elektrophoresepuffer (pH 2,3) gut getrennt (Abb. 1). Die Eichgeraden mit Nitrazepam als interner Standard sind in Abbildung 2 dargestellt. Die Nachweisgrenzen lagen mit gespikten Proben im Bereich von 1 ng/mg Haare. In Haaren von Drogentoten, in denen bereits Benzodiazepine mit GC/MS bestimmen worden waren, war es in 25 von 28 Messungen möglich, die qualitative Ergebnisse mit Kapillarelektrophorese zu bestätigen (Tabelle 1). Die mit KE quantitativ gemessenen Werte waren im allgemeinen höher als diejenigen mit GC/MS.

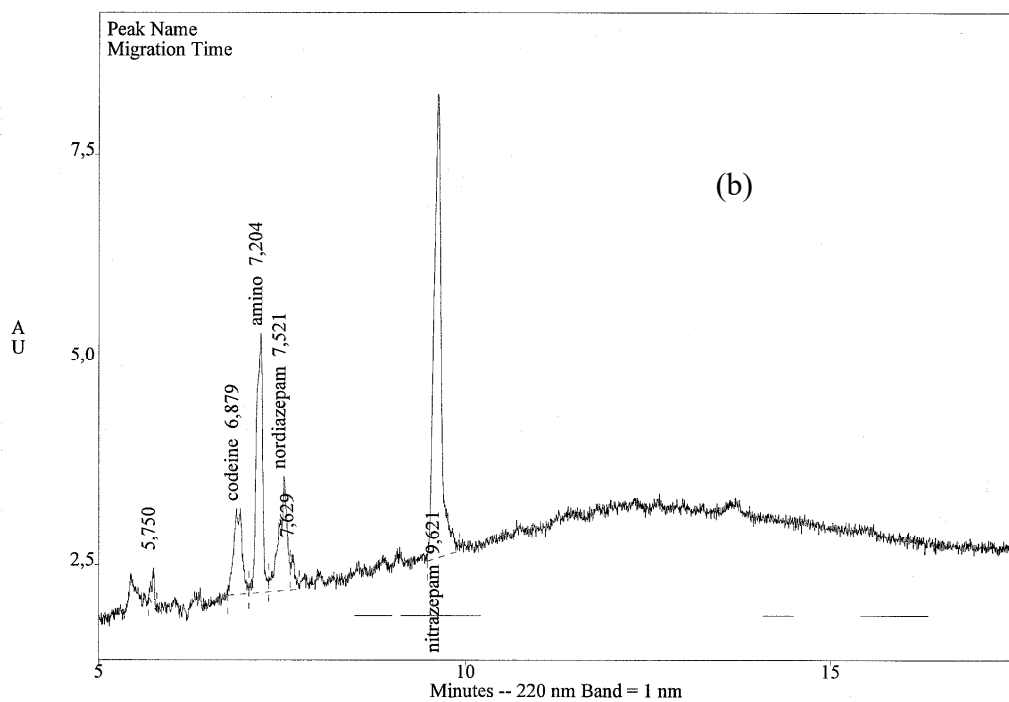
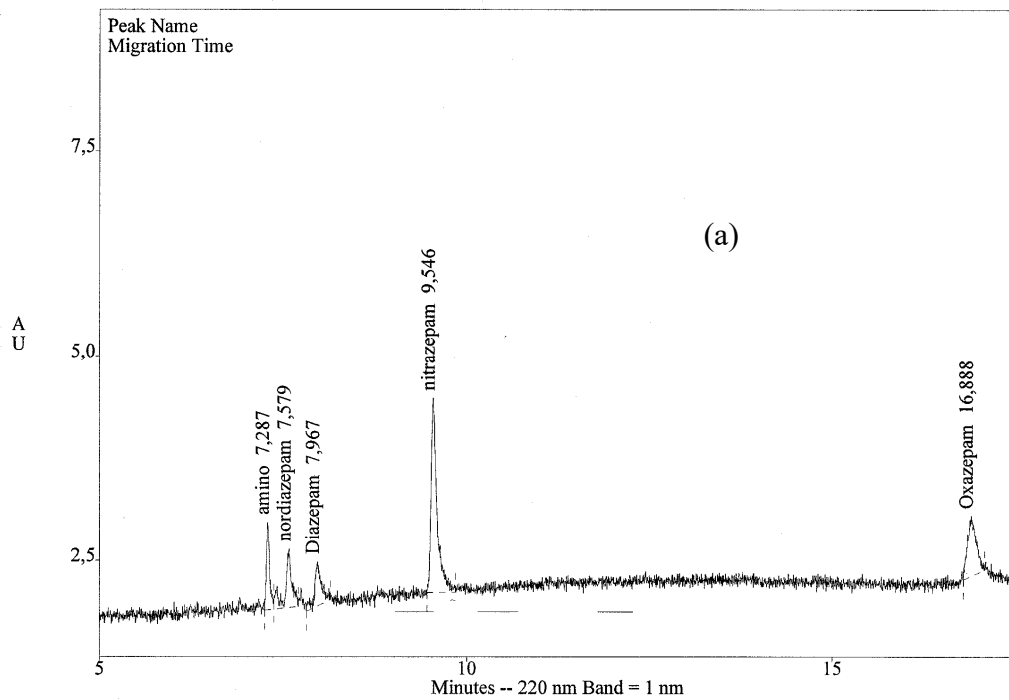


Abb. 1: Elektropherogramme von

- a) 30 mg Kontrollhaaren gespikt mit 125 ng Diazepam, 250 ng Nordazepam, 400 ng Oxazepam und 250 ng Aminoflunitrazepam
- b) 36 mg Haarprobe der "Person 1". Interner Standard 300 ng Nitrazepam.

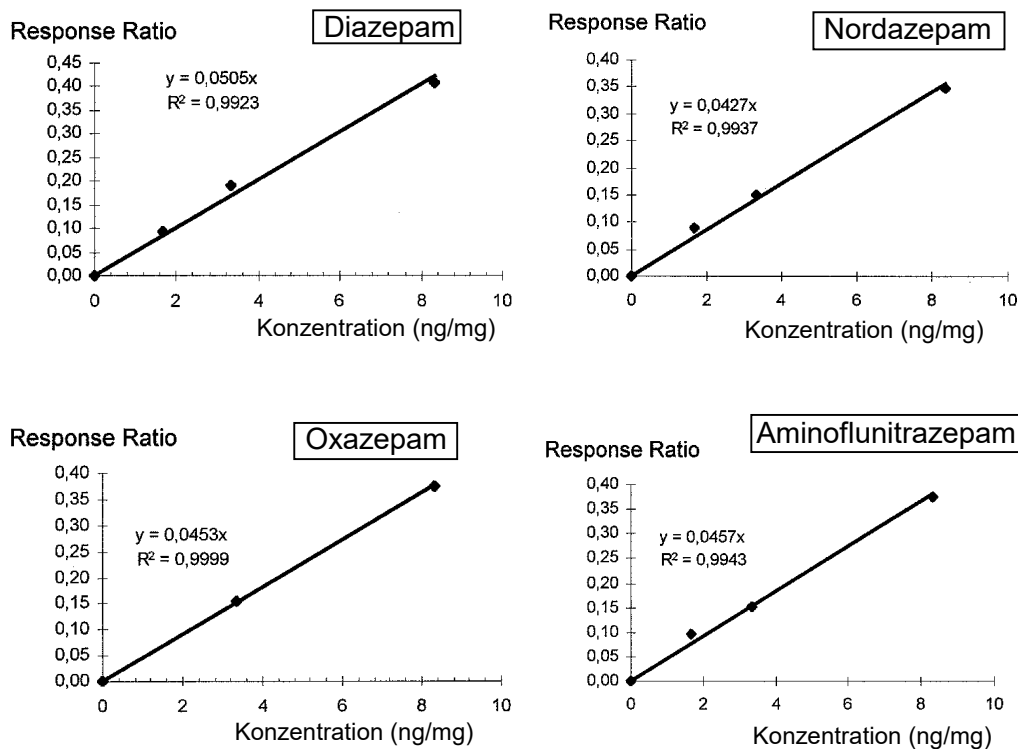


Abb. 2: Kalibriergeraden der vier Benzodiazepine

Tab. 1 : Vergleich der Meßergebnisse von Haarproben mittels Kapillarelektrophorese und GC/MS. Konzentrationen in ng/mg Haar; GC/MS-Werte nach enzymatischer Extraktion mit Glucuronidase; nd = nicht detektiert.

Person	Methode	Nordazepam	Oxazepam	Diazepam	Amino- flunitrazepam
1	KE	6,2	nd	0,9	4,0
	GC/MS	3,0	nd	0,3	0,5
2	KE	2,7	nd	nd	2,6
	GC/MS	0,6	nd	nd	1,9
3	KE	nd	nd	9,5	2,0
	GC/MS	nd	nd	0,1	0,2
4	KE	13,8	2,7	nd	nd
	GC/MS	4,5	1,9	0,1	nd
5	KE	2,6	nd	1,6	9,3
	GC/MS	3,6	0,4	3,3	8,2
6	KE	4,0	nd	nd	nd
	GC/MS	0,5	nd	nd	nd
7	KE	5,0	nd	nd	1,8
	GC/MS	0,2	nd	0,1	0,2

Diskussion und Schlußfolgerungen

Die ersten Ergebnisse zeigen, daß die Kapillarelektrophorese eine interessante analytische Methode in der forensischen Toxikologie darstellt. Mittels Kapillarzonenelektrophorese war es möglich, drei Benzodiazepine und einen Metaboliten von Flunitrazepam in den Kopfharen nachzuweisen. Die Nachweisgrenze lag im Bereich von 1ng/mg Haare.

In Haaren von Drogentoten, bei welchen wir Benzodiazepine mit GC/MS bestimmt hatten, war es in den meisten Fällen möglich, die Resultate mit KE qualitativ zu bestätigen. Die quantitativen Werte der KE waren in allgemeinen höher als die der GC/MS. Die quantitativen Unterschiede könnten u. a. durch die unterschiedliche Aufarbeitung der Haarproben (enzymatische Konjugatspaltung mittels Glucuronidase [3] bei GC/MS, Proteinaufschluß bei KE) erklärt werden.

Die KE könnte vor allem bei nicht hitzebeständige Substanzen komplementär zur GC/MS eingesetzt werden.

Literaturverzeichnis

- [1] F. Tagliaro, R. Poiesi, R. Aiello, S. Dorizzi, S. Ghielmi and M. Marigo: Capillary electrophoresis for the investigation of drugs in hair: determination of cocaine and morphine. *J. Chromatogr.* 638 (1993) 303-309.
- [2] F. Tagliaro, W. F. Smyth, S. Turrina, Z. Deyl and M. Marigo: Capillary electrophoresis: a new tool in forensic toxicology. Applications and prospects in hair analysis for illicit drugs. *Forensic Sci. Int.* 70 (1995) 93-104.
- [3] M. Yegles, F. Mersch and R. Wennig: Detection of benzodiazepines and other psychotropic drugs in human hair by GC/MS. *Forensic Sci. Int.* 84 (1997) 211-218.

Prof. Dr. Robert Wennig
Division Toxicologie
Laboratoire National de Santé
Centre Universitaire de Luxembourg
CRP Santé
162a, av. de la Faiënerie
L-1511 Luxembourg