

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Matthias Graw

***Nachweis von Metaboliten in Haarproben zur
Differenzierung eines Konsums
von einer Exposition***

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Thomas Franz

aus

Bonn

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Frank Mußhoff

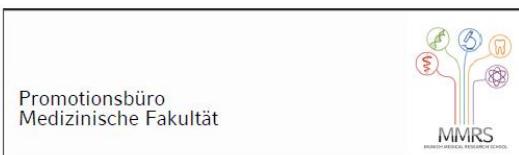
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Bettina Zinka

Prof. Dr. Oliver Pogarell

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 01.07.2021

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Franz, Thomas

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

**Nachweis von Metaboliten in Haarproben zur Differenzierung
eines Konsums von einer Exposition**

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 08.07.2021

Thomas Franz

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Inhaltsverzeichnis

Affidavit	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	6
1 Beitrag des Autors zu den Veröffentlichungen	7
1.1 Veröffentlichung 1	7
1.2 Veröffentlichung 2	8
1.3 Veröffentlichung 3	9
1.4 Veröffentlichung 4	10
2 Einleitung	11
2.1 Untersuchung von Suchtstoffen in biologischem Material	11
2.1.1 Haaranalytik	12
2.1.2 Methodische Durchführung einer Haaranalyse	12
2.1.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie	13
2.2 Das menschliche Haar	14
2.2.1 Morphologie	15
2.2.2 Wachstum	15
2.2.3 Einlagerung von Fremdstoffen in Haare	16
2.3 Nachweis von Cannabinoiden und Cocain in Haarproben	18
2.3.1 Methoden zum Nachweis von Cannabinoiden in Haarproben	18
2.3.2 Methoden zum Nachweis von Cocain in Haarproben	20
3 Zusammenfassung	23
4 Abstract	24
5 Veröffentlichung 1	25
6 Veröffentlichung 2	26
7 Literaturverzeichnis	27
Anhang A: Veröffentlichung 3	30
Anhang B: Veröffentlichung 4	31
Anhang C: weitere Veröffentlichungen und Beiträge	32

C.1	Veröffentlichungen in Fachzeitschriften	32
C.2	Konferenzbeiträge	32
C.2.1	Vorträge.....	32
C.2.2	Posterbeiträge	33
8	Danksagung	34

Abkürzungsverzeichnis

BtM	Betäubungsmittel
BtMG	Betäubungsmittelgesetz
ESI	Elektrosprayionisierung
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LIT	Lineare Ionenfalle (engl. Linear ion trap)
OWi	Ordnungswidrigkeit
SoHT	Society of Hair Testing
StGB	Strafgesetzbuch
StPO	Strafprozessordnung
THC	(-)-trans- Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, (-)-(6aR,10aR)-6,6,9-Trimethyl- 3-pentyl-6a,7,8,10a-tetrahydro- 6H-benzo[c]chromen-1-ol (IUPAC)
THC-OH	11-Hydroxy- Δ^9 -THC
THC-COOH	11-Nor- Δ^9 -carboxy-THC

1 Beitrag des Autors zu den Veröffentlichungen

1.1 Veröffentlichung 1

“Proof of active cannabis use comparing 11-hydroxy- $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol with 11-nor-9- carboxy-tetrahydrocannabinol concentrations”

Franz, Thomas; Skopp, Gisela; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2018)

In: Drug Testing and Analysis 10 (10), S. 1573–1578.

DOI: 10.1002/dta.2415

Die Arbeitsanteile der einzelnen Autoren der genannten Veröffentlichung sind in folgender Tabelle dargestellt, der Beitrag des Autors dieser wissenschaftlichen Arbeit (Thomas Franz) ist fettgedruckt.

Anteil der einzelnen Autoren

Franz, Thomas	A, B, C, F, G
Skopp, Prof. Dr. Gisela	A, E, H
Schwarz, Gerlinde	A, H
Mußhoff, Prof. Dr. Frank	A, D, E, H

Experimente und Auswertung	A: Idee und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: Supervision
Manuskript	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision

1.2 Veröffentlichung 2

“Determination of hydroxy metabolites of cocaine from hair samples and comparison with street cocaine samples”

Franz, Thomas; Scheufler, Frank; Stein, Klaus; Uhl, Michael; Dame, Torsten; Schwarz, Gerlinde; Sachs, Hans[†]; Skopp, Gisela; Mußhoff, Frank (2018)

In: Forensic Science International 288, S. 223–226.

DOI: 10.1016/j.forsciint.2018.04.007.

Die Arbeitsanteile der einzelnen Autoren der genannten Veröffentlichung sind in folgender Tabelle dargestellt, der Beitrag des Autors dieser wissenschaftlichen Arbeit (Thomas Franz) ist fettgedruckt.

Anteil der einzelnen Autoren

Franz, Thomas	A, B, C, F, G, H
Scheufler, Dr. Frank	D
Stein, Dr. Klaus	D
Uhl, Dr. Michael	A, D
Dame, Torsten	B, C
Schwarz, Gerlinde	A, H
Sachs, Dr. Hans	A, E
Skopp, Prof. Dr. Gisela	A, E, H
Mußhoff, Prof. Dr. Frank	A, D, E, H

Experimente und Auswertung	A: Idee und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: Supervision
Manuskript	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision

1.3 Veröffentlichung 3

“Determination of hydroxy metabolites of cocaine in hair samples for proof of consumption.”

Musshoff, Frank; Thieme, Detlef; Schwarz, Gerlinde; Sachs, Hans[†]; Skopp, Gisela; Franz, Thomas (2018)

In: Drug Testing and Analysis 10 (4), S. 681–688.

DOI: 10.1002/dta.2317.

Die Arbeitsanteile der einzelnen Autoren der genannten Veröffentlichung sind in folgender Tabelle dargestellt, der Beitrag des Autors dieser wissenschaftlichen Arbeit (Thomas Franz) ist fettgedruckt.

Anteil der einzelnen Autoren

Mußhoff, Prof. Dr. Frank	A, D, E, F, H
Thieme, Dr. Detlef	D
Schwarz, Gerlinde	A, H
Sachs, Dr. Hans	A, E
Skopp, Prof. Dr. Gisela	E, H
Franz, Thomas	A, B, C, F, G, H

Experimente und Auswertung	A: Idee und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: Supervision
Manuskript	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision

1.4 Veröffentlichung 4

“Positive THC-COOH findings in hair samples negative for THC”

Musshoff, Frank; Skopp, Gisela; Franz, Thomas (2020)

In: Drug Testing and Analysis 12 (1), S. 156–158.

DOI: 10.1002/dta.2696.

Die Arbeitsanteile der einzelnen Autoren der genannten Veröffentlichung sind in folgender Tabelle dargestellt, der Beitrag des Autors dieser wissenschaftlichen Arbeit (Thomas Franz) ist fettgedruckt.

Anteil der einzelnen Autoren

Mußhoff, Prof. Dr. Frank	A, E, F, H
Skopp, Prof. Dr. Gisela	A, E, H
Franz, Thomas	A, B, C, F; G, H

Experimente und Auswertung	A: Idee und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: Supervision
Manuskript	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision

2 Einleitung

Die Analyse von Haaren zum Nachweis von Drogen und Medikamenten hat sich in den vergangenen Jahren im Bereich der forensischen Toxikologie zunehmend etabliert. Allerdings muss bei der Bewertung der Analysenergebnisse immer auch eine externe Kontamination der Haare in Betracht gezogen werden. Zusätzlich über die Aufnahme von Substanzen aus der Blutversorgung der Papille und des dermalen Plexus sowie über Talg/Schweiß ist eine Kontamination durch Rauch oder Stäube bei Drogen, die üblicherweise geraucht oder geschnupft werden, in Betracht zu ziehen [1, 2].

Zur Differenzierung einer willkürlichen von einer passiven Exposition wurden in den vergangenen Jahren verschiedene Arbeiten zum Nachweis von Drogenmetaboliten in Haaren publiziert. Durch einen Nachweis von Metaboliten lässt sich eine Körperpassage belegen; hierdurch können Beurteilungen des Konsumverhaltens und der -intensität, die sich lediglich auf den Nachweis der Ausgangssubstanzen stützen, objektiviert werden [3, 4].

Die vorliegende Arbeit beschäftigt mit dem Nachweis von Metaboliten, insbesondere von Cannabis und Cocain, in Haarproben.

Die Einleitung gibt einen Überblick über die Analytik von Suchtstoffen in biologischem Material, die Physiologie der Haare und den Stand der Technik zum Nachweis von Cannabinoiden und Cocain in Haaren.

Im Hauptteil dieser Arbeit sind die Publikationen des Autors zu diesem Thema aufgeführt.

In der Zusammenfassung werden die publizierten Ergebnisse diskutiert.

2.1 Untersuchung von Suchtstoffen in biologischem Material

Im Zusammenhang mit rechtlichen Fragestellungen bei Verstößen gegen das Betäubungsmittelgesetz (BtMG), bei der Beurteilung der Schuldfähigkeit (§ 20, 21 StGB), im Familienrecht sowie bei Eignungsfragen im Bereich der Fahreignung, der beruflichen Eignung oder des Waffen- und Gaststättenrechts sowie bei Bewährungsauflagen ist die Untersuchung von Suchtstoffen in biologischem Material ein wichtiges Diagnoseinstrument.

Für forensisch-toxikologische Analysen von Suchtstoffen kommen verschiedene Matrices als Untersuchungsmaterial in Betracht. Diese Matrices unterscheiden sich in der Art der Probengewinnung (invasiv ↔ nicht invasiv), des durch die Analyse überprüfbaren Zeitraums (Stunden/Tage/Monate) und der zu erwartenden Analyten (Muttersubstanz ↔ Metaboliten) (Abbildung 1) [5]. Seit vielen Jahren sind Analysen in den Matrices Blut, Urin und Haaren etabliert; vermehrt werden jedoch auch alternative Materialien wie z.B. Speichel, Fingernägel etc. eingesetzt.

Matrix	Analyten		Nachweisfenster			
	Ausgangs- substanzen	Metabolite	Stunden	Tag	Wochen	Monate
Blut	+	0				
Urin	-	+				
Haare	+	+				
Speichel	+	0				
Schweiß	0	+				
Nägel	+	+				

Abbildung 1: Analytenprofil und Nachweisfenster verschiedener Matrices (+ = nachweisbar, 0 = teilweise nachweisbar, - = i.d.R. nicht nachweisbar)

2.1.1 Haaranalytik

Der Vorteil der Haaranalytik liegt in den, je nach verfügbarer Haarlänge, relativ langen Nachweisfenstern von bis zu mehreren Monaten, welche Rückschlüsse auf das Ausmaß des Konsums bzw. Änderungen im Konsumverhalten zulassen. Abhängig von den biochemischen Parametern der Analyten wie z.B. ihres pKa-Wertes, ihrer Molekülgröße, Lipophilie und Melaninaffinität sind je nach Substanz teilweise nur geringe Einlagerungsraten in das Haar zu erwarten. Weiterhin liegt im Gegensatz zu anderen Untersuchungsmaterialien wie Blut oder Urin die in eine Analyse einsetzbare Menge im mg-Bereich, weswegen hohe Ansprüche an die Sensitivität der Analysentechnik gestellt werden müssen. Um diesen Ansprüchen gerecht zu werden, haben sich hochleistungsflüssigkeitschromatographische Verfahren mit massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS) durchgesetzt [2].

2.1.2 Methodische Durchführung einer Haaranalyse

Der schematische Ablauf einer Haaranalyse ist in Abbildung 2 dargestellt. Bei der Probenahme wird dem Probanden eine etwa bleistiftdicke Haarsträhne, vorzugsweise im Bereich des posterior Vertex, entnommen und an das Untersuchungslabor versandt.

Zunächst erfolgt dann die Beschreibung der Haarprobe; hierbei werden Länge, Farbe, Textur und Besonderheiten wie kosmetische Haarbehandlungen der Probe dokumentiert. Im Anschluss daran wird die Haarprobe gemäß der Fragestellung segmentiert und eingewogen. Im nächsten Schritt werden verschiedene Waschschritte mit Lösemitteln durchgeführt, um Verunreinigungen, insbesondere aber von außen angetragene Drogenrückstände, möglichst weitgehend zu entfernen.

Vor der Extraktion wird die Haarprobe mechanisch zerkleinert und anschließend meist mit Lösemitteln extrahiert; anstelle der Extraktion kann auch eine Hydrolyse unter weitgehender Auflösung der keratinisierten Faser erfolgen. Der Extrakt wird anschließend weiter aufgearbeitet; häufig reichen ein Eindampfen und Rekonstitution des Extraktes aus; bei

besonderen Fragestellungen können weitere Aufarbeitungsschritte wie z.B. eine Derivatisierung notwendig sein.

Nach der Aufarbeitung wird die Probe analysiert, hierzu werden in der Regel chromatographische Verfahren mit massenspektrometrischer Detektion eingesetzt.



Abbildung 2: Schematischer Ablauf einer Haaranalyse

2.1.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie

2.1.3.1 HPLC

Mit Hilfe der HPLC lassen sich Stoffgemische anhand ihrer physiko-chemischen Eigenschaften auftrennen. Hierzu werden wenige Mikroliter eines Stoffgemisches (Probe/Extrakt) mittels eines Injektors in den Fluss eines Lösemittelgemisches (Eluent), welches von der HPLC-Pumpe gefördert wird, injiziert. Die injizierte Probe wird durch den Eluenten zu einer Trennsäule transportiert, in welcher die in der Probe enthaltenen Substanzen unterschiedlich starke Wechselwirkungen mit dem Füllmaterial der Trennsäule eingehen. Aufgrund dieser Wechselwirkungen eluieren die Substanzen zu unterschiedlichen Zeiten (Retentionszeit) von der Trennsäule, so dass Stoffgemische auftrennt werden. Die Trennsäule ist mit einem Detektor verbunden, welcher in Abhängigkeit der Konzentration der Substanzen elektrische Signale (Peaks) generiert. Die Aufzeichnung der Signale gegen die Retentionszeit wird als Chromatogramm bezeichnet.

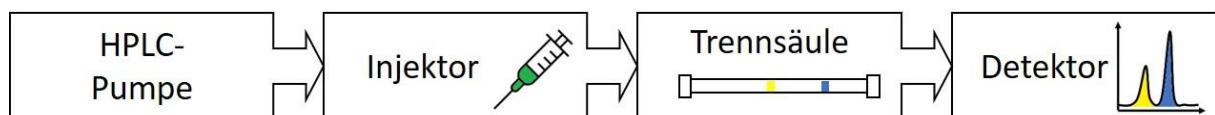


Abbildung 3: Schematischer Aufbau HPLC

2.1.3.2 Massenspektrometrie

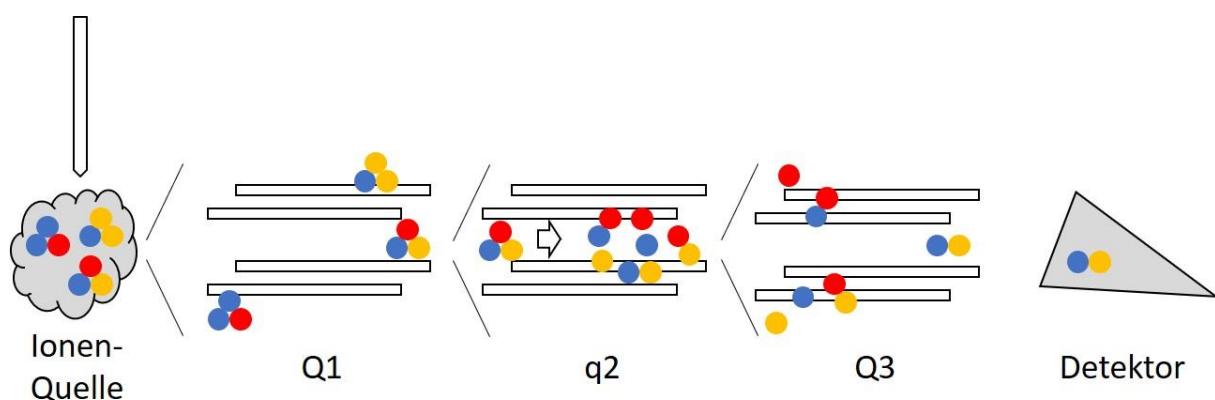


Abbildung 4: Schematischer Aufbau eines Triple-Quadrupol Massenspektrometers

Die Massenspektrometrie ist eine Technik zur Bestimmung des Masse-zu-Ladungsverhältnisses (m/z) von Ionen im Hochvakuum. In Kopplung mit der HPLC werden

hierfür meist sogenannte Triple-Quadrupol-Massenspektrometer – 3 hintereinandergeschaltete Quadrupole - eingesetzt.

Ein Massenspektrometer lässt sich schematisch in die Komponenten Ionenquelle, Massenanalysator und Detektor (Registrierung des Ionenstroms) unterteilen. In der Ionenquelle werden die im Eluenten befindlichen, geladenen Analyten im Falle der Elektrospray-Ionisierung (ESI) im elektrostatischen Feld in sehr kleine Tröpfchen dispergiert; durch Verdampfung des Lösemittels schrumpfen die Tröpfchen und zerfallen schließlich bei Überschreiten des Rayleigh-Limits. Durch Coulomb-Explosion entstehen Teilchen mit einem Radius von nur wenigen Nanometern.

Dieses Gemisch verschiedenster Ionen wird durch Anlegen von Potentialen in den Ionenpfad geleitet. Im ersten Quadrupol (Q1) werden die Molekülionen nach ihren Masse-Ladungs-Verhältnissen aufgetrennt. In einem weiteren Quadrupol (q2) - Kollisionszelle - können die Molekülionen durch Stöße mit einem Inertgas (z.B. Stickstoff, Argon) weiter fragmentiert werden. Die hierbei entstehenden Fragmente werden in einem weiteren Quadrupol (Q3) ebenfalls anhand ihres m/z -Verhältnisses aufgetrennt. Durch Aufprall der Ionen auf den Detektor wandelt dieser die Ionen in elektrische Signale um. Die Aufzeichnung der Signalintensität gegen das m/z Verhältnis wird als Massenspektrum bezeichnet, welches spezifisch für jede einzelne Substanz ist.

In Ergänzung hierzu kann bei sogenannten QTrap-Massenspektrometern Q3 als lineare Ionenfalle genutzt werden, in welcher verschiedene Experimente durchgeführt werden können. Beim

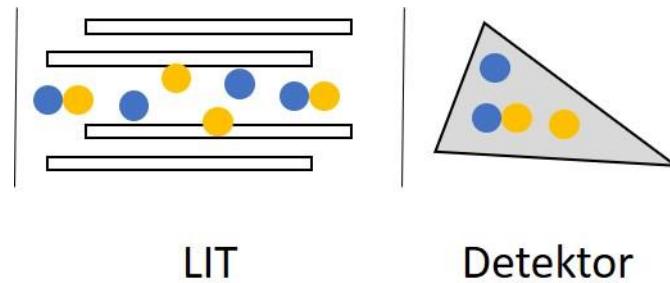


Abbildung 5: Schematischer Aufbau einer Ionenfalle

MS³-Experiment wird ein definiertes Ion aus der Kollisionszelle in der Ionenfalle angereichert und zu Schwingungen angeregt. Hierdurch stoßen die einzelnen Ionen gegeneinander wodurch sich weitere Fragmente dieser Ionen bilden. Diese Fragmente lassen sich nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis in den Detektor überführen und ebenfalls in einem Massenspektrum darstellen, welches eine deutlich höhere Spezifität für die einzelnen Substanzen aufweist. Die Signalintensität der einzelnen Ionen ist proportional zu der Konzentration des Analyten.

2.2 Das menschliche Haar

In die Haaranalyse wird das keratinisierte Haar eingesetzt. Hierbei handelt es sich um sog. trockene Hautanhangsgebilde mit einem Durchmesser von 53-80 μm (Kopfhaare des Menschen) [6].

2.2.1 Morphologie

Strukturell sind keratinisierte Haare ein teilkristallines polymeres Netzwerk mit verschiedenen funktionellen Gruppen. Ihre Zusammensetzung besteht zu 65 – 95% aus Proteinen (hauptsächlich Keratinen), 6 – 13% aus Wasser und 1 - 9% aus Lipiden [7, 6].

Das menschliche Haar zeigt einen typischen Aufbau in drei konzentrische Regionen – Cuticula, Cortex und Medulla. Die Cuticula besteht aus flachen, schuppenartig angeordneten, mehrlagigen, ca. 0,4 µm dicken, ca. 35 µm breiten und ca. 44 µm langen Zellen, die Schuppen aus einer vollständig verhornten Exocuticula und der Endocuticula mit einer harten äußeren und einer weniger widerstandsfähigen inneren Schicht. Die Cuticula schützt das Haar vor physikalisch-chemischen Einflüssen. Der Cortex ist aus parallel angeordneten spindelförmigen Zellen aufgebaut, die ca. 100 µm lang und 3-5 µm dick im Durchschnitt sind; er macht die größte Masse der Haarfaser aus. In den Cortex eingebettet sind die Melaningranula, die für die Farbe des Haars verantwortlich sind. Dunkle Haare enthalten mehr Melanin als blonde; man unterscheidet Phäo- und Eumelamine, die rötlich bzw. braun gefärbt sind. Im Innern des Haars liegt der Markkanal (Medulla), welcher aus weniger dicht gepackten Zellen besteht; menschliche Haare enthalten nicht immer eine oder eine unterbrochene Medulla. Der Zellmembrankomplex befindet sich zwischen den Cuticula- und Cortexzellen; es handelt sich um eine 20-38 nm breite Netzwerkstruktur, die als „Mörtel“ die ganze Faser durchzieht [6].

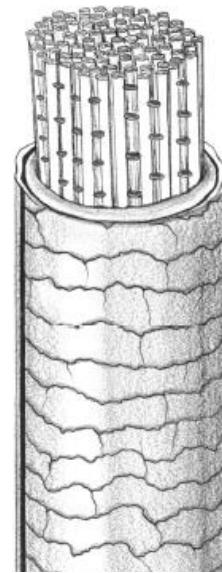


Abbildung 6: Aufbau eines Haares

2.2.2 Wachstum

Der Wachstumszyklus eines Haares

lässt sich in eine Anagen-, Katagen-

und Telogenphase unterteilen

(Abbildung 7) [7].

Haare werden in ca. 4 mm tiefen taschenartigen Vertiefungen der Dermis, den Haarfollikeln, gebildet.

An der Basis des Haarfollikels (Papille) werden in der Anagenphase

den Haarmatrixzellen über die Blutversorgung alle zum Wachsen

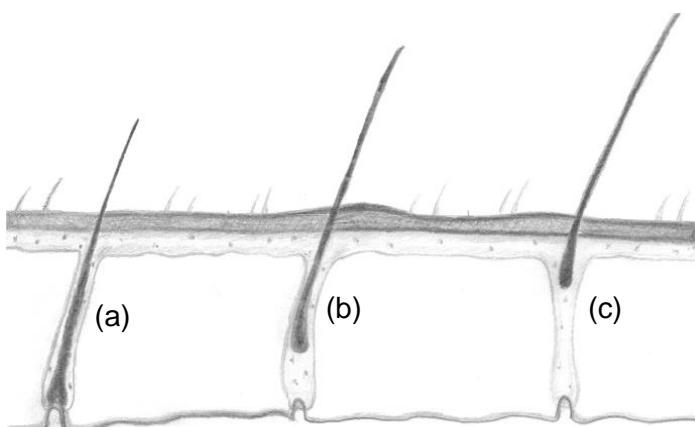


Abbildung 7: Haarwachstumszyklen (a) Anagenphase, (b) Katagenphase, (c) Telogenphase

benötigten Bausteine zur Verfügung gestellt. Durch Zellteilung werden in dieser Phase kontinuierlich neue Zellen gebildet, wodurch das Haar nach außen wächst. Im späteren Stadium verhornen (keratinisieren) die Zellen, der Zellkern wird abgebaut, die Zellen

differenzieren in Cuticula-, Cortex- und Medullazellen, wobei diese durch den Proliferationsdruck ihre typische Form erhalten.

An die Anagenphase (ca. 2-5 Jahre, genetisch determiniert) schließt sich die Katagenphase (Dauer: wenige Tage) an, in welcher die Zellteilung im Follikel nach und nach eingestellt wird und sich das sog. Kolbenhaar bildet. Dieses wird, umgeben von der äußeren Wurzelscheide, bis zur Region unterhalb der Talgdrüse hochgeschoben und verweilt dort während der Telogenphase (Dauer: ca. 3 Monate). Hieran schließt sich eine erneute Anagen-Phase an, durch welche das telogene Haar aus dem Bulbus geschoben wird und schließlich ausfällt.

Der Anteil der Haare in den verschiedenen Phasen unterscheidet sich je nach Haarart und wird durch äußere Faktoren wie z.B. Ernährung, Hormonstatus, Medikation, Jahreszeit etc. beeinflusst [7, 6].

Tabelle 1: Wachstumsraten verschiedener Haararten

Haarart	Wachstumsrate	Dauer der Anagenphase	Anteil telogener Haare
Kopfhaar	0,2-0,5 mm/Tag	2 – 5 Jahre	7 – 9%
Achselhaare	0,28-0,44 mm/Tag	44 – 72 Wochen	54 – 58%
Schamhaare	0,3 – 0,39 mm/Tag	47 – 77 Wochen	Ca. 54%
Barthaare	0,25 – 0,29 mm/Tag	2 – 11 Wochen	24- 45%

Für toxikologische Analysen sind Kopfhaare am besten geeignet, da diese die geringste Variation bzgl. der Wachstumszyklen haben, während Körperhaare deutliche Unterschiede bzgl. Wachstumsraten und Dauer der Zyklen aufweisen (Tabelle 1) [6]. Jedoch müssen Variationen der Wachstumszyklen bei der Beurteilung von Haarbefunden immer berücksichtigt werden, da z.B. telogene Haare aus einer vorangegangenen Konsumperiode nach kurzzeitiger Abstinenz noch zu positiven Befunden führen können.

2.2.3 Einlagerung von Fremdstoffen in Haare

Fremdstoffe können über verschiedene Wege in Haare ein- oder aufgelagert werden (Abbildung 8).

Einer der Hauptwege ist die Einlagerung über die Blutgefäße der Papille, in geringem Maße auch über die Blutversorgung des dermalen Plexus. Hierbei werden zuvor aufgenommene Substanzen über die Blutbahn zur Haarwurzel transportiert und dort während der Anagenphase in das entstehende Haar eingelagert. Die eingelagerten Substanzen werden während der Keratinisierung im Haar „konserviert“, eine longitudinale Diffusion entlang der Haarfaser findet nicht statt. Hierdurch ist es möglich, durch eine abschnittsweise Untersuchung des Haares eine Substanzaufnahme zeitlich einzuschränken, z.B. bei der Fragestellung einer Beibringung von K.o.-Mitteln oder einer Änderung im Konsumverhalten. Die Einlagerung ist

von zahlreichen Faktoren abhängig; so werden lipophile und basische Substanzen in höheren Konzentrationen in Haare eingelagert als hydrophile oder saure Substanzen. Weitere Faktoren für das Ausmaß der Einlagerung sind die Molekülgröße (große Moleküle lagern sich schlechter in Haare ein als kleinere) und die Melaninaffinität einer Substanz (je stärker desto mehr Substanz wird ins Haar eingelagert) [8, 6].

Neben der Einlagerung über die Blutgefäße der Haut werden Fremdstoffe auch über Schweiß und Talg an die Haare angetragen. Fremdstoffe lassen sich schon wenige Stunden nach ihrer Aufnahme im Schweiß nachweisen, während die Ausscheidung über Talg allerdings bis zu 25 Tagen andauern kann.

Zusätzlich zu der Einlagerung über die Blutbahn bzw. Hautausscheidungsprodukten können Fremdstoffe auch von außen über Rauch, Stäube oder Aerosole an/auf die Haare gelangen. Eine externe Kontamination ist vor allem bei Drogen, die geraucht werden oder feinstäubig vorliegen, in Betracht zu ziehen. Diese lässt sich durch die Dekontaminierungsschritte nicht kontrollierbar und auch nicht immer vollständig entfernen, so dass z.B. bei Personen mit engem Kontakt zu Konsumenten positive Haarbefunde resultieren können.

Um positive Ergebnisse auch bei einer externen Kontamination mit der *in foro* erforderlichen Sicherheit beurteilen zu können, hat sich der Nachweis von Metaboliten etabliert. Diese werden erst bei der Körperpassage gebildet, sodass der positive Nachweis der Metaboliten die Körperpassage und somit die Aufnahme einer Substanz belegt.

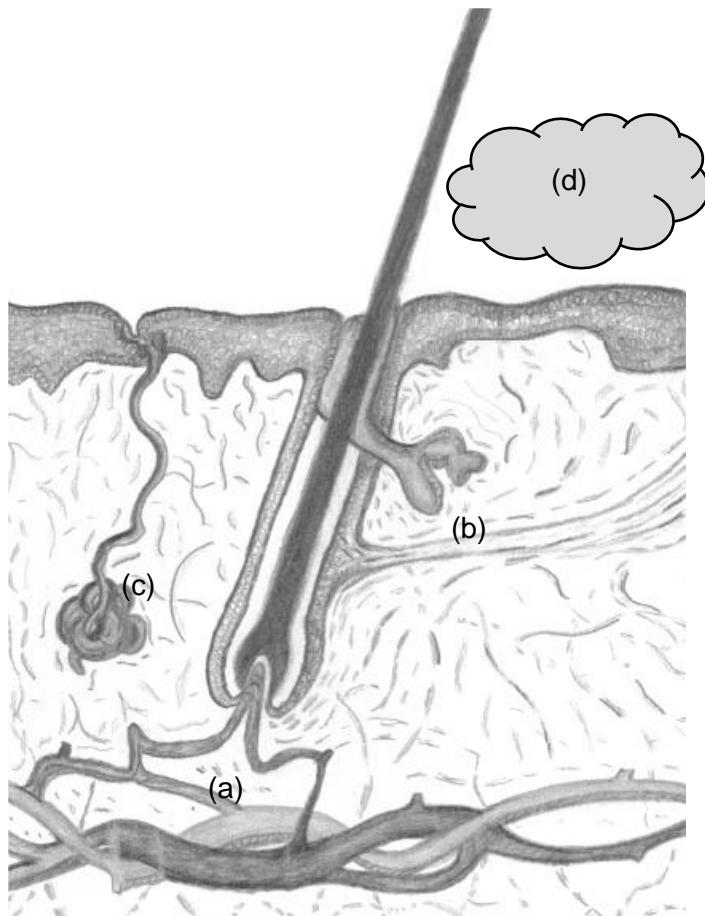


Abbildung 8: Einlagerungswege von Fremdstoffen in Haare (a) über Blutgefäße, (b) über Sebum, (c) über Schweiß, (d) Kontamination durch Stäube/Aerosole

2.3 Nachweis von Cannabinoiden und Cocain in Haarproben

2.3.1 Methoden zum Nachweis von Cannabinoiden in Haarproben

2.3.1.1 Allgemeines

Die biogenen Cannabinoide sind in den krautartigen Pflanzen der Gattung Cannabis (Cannabinaceae) enthalten. Im internationalen Sprachgebrauch werden unter Cannabis auch rauscherzeugende Cannabiszubereitungen subsummiert. Nach Anlage I des BtMG gilt Cannabis als nicht verkehrsfähig, wenn der Gehalt des Cannabinoids (–)- Δ^9 -trans-Tetrahydrocannabinol (THC) 0,2 % überschreitet. Nach Anlage III des BtMG gilt Cannabis jedoch als verkehrs- und verschreibungsfähig, sofern es aus einem für medizinische Zwecke bestimmten Anbau stammt oder in Fertigarzneimitteln verwendet wird. THC gilt nach Anlage II des BtMG als verkehrs-, jedoch nicht als verschreibungsfähig.

Cannabis zählt weltweit zu der am häufigsten konsumierten, illegalen Drogen. Laut Drogen- und Suchtbericht 2019 gaben 31,9% der Deutschen zwischen 18 und 59 Jahren an, in ihrem Leben Cannabis konsumiert zu haben. Bei 8,3 % fand ein Konsum innerhalb der letzten zwölf Monate, und bei 3,4% innerhalb der letzten 30 Tage statt.

Bei jungen Erwachsenen im Alter von 18 bis 25 Jahren liegen die Prävalenzen bei 40,5% (Lebenszeit), mit einem Konsum bei 22,0 % innerhalb der letzten 12 Monate und bei 9,2% innerhalb der letzten 30 Tage [9]. Der Konsum erfolgt meist durch Rauchen des pflanzlichen Materials als Marihuana (getrocknetes Kraut) oder Haschisch (Harz aus den Blütenständen), auch gemischt mit Tabak, in Form eines Joints. Seltener wird Cannabis in Form von Gebäck oder Tee konsumiert. Aufgenommenes THC bindet an die körpereigenen Cannabinoid-Rezeptoren, wodurch die gewünschten Wirkungen erzielt werden.

Der medizinische Nutzen von Cannabis als Arzneimittel wird kontrovers diskutiert. Seitdem der Gesetzgeber im Jahr 2017 die Verschreibung von Cannabisblüten als Arzneimittel zugelassen hat, ist in den letzten Jahren ein deutlicher Anstieg der Verschreibungen zu beobachten.

Neben THC enthalten Cannabispflanzen noch zahlreiche weitere Cannabinoide, darunter als ersten Begleitstoff Cannabidiol (CBD), einen CB1-Rezeptorantagonisten. Die Verhältnisse der Cannabinoide zueinander variieren je nach Pflanzenart. In jüngster Zeit kommt freiverkäuflichen cannabisbasierten Nahrungsergänzungsmitteln eine immer größere Bedeutung zu. Diese Mittel zeichnen sich durch hohe Gehalte an CBD aus, ein THC Gehalt von 0,2% darf bei diesen jedoch nicht überschritten werden.

2.3.1.2 Metabolismus von THC

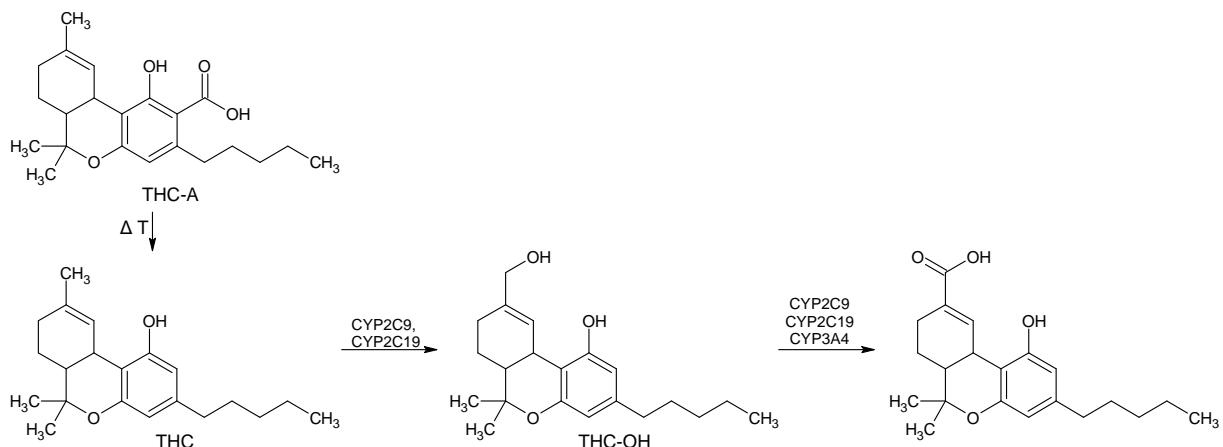


Abbildung 9: Metabolismus von THC

Im pflanzlichen Material liegt THC hauptsächlich in Form der Vorläufersubstanz THC-Säure A vor. Beim Erhitzen wird diese decarboxyliert, wodurch das psychotrope THC bioverfügbar wird. Bei der Körperpassage wird THC zunächst zum primären Metaboliten 11-Hydroxy-Δ⁹-THC (THC-OH) und weiter zum 11-Nor-Δ⁹-carboxy-THC (THC-COOH) verstoffwechselt. Die Elimination aus dem Körper erfolgt überwiegend über den Stuhl und im Urin in Form des Acylglucuronids der THC-COOH. Im Fettgewebe kann es bei wiederholtem Konsum zu einer Anreicherung von Cannabinoiden kommen, wodurch sich insbesondere THC-COOH noch sehr lange in Körperflüssigkeiten nachweisen lässt [10–12].

2.3.1.3 Nachweis von Cannabis in Haarproben und dessen Fallstricke

In der Literatur sind viele Methoden zum Nachweis von Cannabinoiden in Haaren beschrieben. Häufig wird die Haarprobe hierzu mit Lösemittel extrahiert und das THC mittels chromatografischer Verfahren nachgewiesen. Die zu erwartenden THC-Konzentrationen liegen im niedrigen ng/mg Bereich [13, 14]. Die Society of Hair Testing (SoHT) schlägt in ihren Richtlinien einen Grenzwert (cut-off) von 0,1 ng THC/mg Haar vor, ab welchem ein Befund als positiv zu werten ist [15]. Die Beurteilungskriterien für die Fahreignungsdiagnostik geben eine Mindestanforderung an die Bestimmungsgrenze von 0,02 ng THC/mg Haar vor [16].

Durch diese Methoden kann jedoch lediglich der Umgang mit Cannabis belegt werden, da eine externe Kontamination der Haare durch Rauch nicht ausgeschlossen werden kann. Auch Rückschlüsse auf das Konsumverhalten lassen sich so nicht treffen, da ein Konsument sich stets auch selbst „beräuchert“.

Der Nachweis eines Konsums und auch die Beurteilung des Konsumverhaltens kann nur durch die quantitative Bestimmung der Metaboliten von THC, die eine Körperpassage belegen, erfolgen. Hierzu wurden in den vergangenen Jahren mehrere Methoden zum Nachweis der THC-COOH in Haaren beschrieben [17–29]. Hierfür wird die Haarprobe meist alkalisch hydrolysiert und nach weiteren Aufarbeitungs- bzw. Derivatisierungsschritten mittels

chromatografischer Verfahren analysiert. Die Konzentrationen für die Metaboliten liegen hier im pg/mg Bereich; die SoHT empfiehlt einen Grenzwert von 0,2 pg THC-COOH/mg Haar [15]. Aktuelle Messwerte können mit dem geschilderten Konsumverhalten in bestimmten Untersuchungskollektiven abgeglichen werden.

In Veröffentlichung 1 dieser wissenschaftlichen Arbeit wird eine routinetaugliche Methode zum Nachweis des primären Metaboliten THC-OH in Haaren beschrieben, der zusätzlich zu THC-COOH den Nachweis einer Körperpassage stützt.

In Veröffentlichung 4 dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass THC-COOH auch noch lange Zeit nach einem Konsum in Haarproben nachweisbar sein kann, u.U. auch dann, wenn THC selbst nicht mehr detektierbar ist.

2.3.2 Methoden zum Nachweis von Cocain in Haarproben

2.3.2.1 Allgemeines

Kokain wird durch Extraktion aus den Blättern der Cocapflanze (Erythroxylaceae) gewonnen, Hauptanbaugebiet dieser Pflanze ist Südamerika. Die Droge wird hauptsächlich in Form des Cocain-Hydrochlorids geschnupft, allerdings ist auch ein Konsum durch Injizieren oder Rauchen (Crack) bekannt.

Laut Drogen- und Suchtbericht gaben 4,4% der Deutschen zwischen 18 und 59 Jahren an, in ihrem Leben bereits Kokain konsumiert zu haben. Bei 1,2% lag der Konsum keine zwölf Monate zurück. Bei den jungen Erwachsenen (18-25 Jahre) lag die Prävalenz bei 2,9% (Jemalskonsum), bzw. 1,2% konsumierten die Droge innerhalb der letzten zwölf Monate [9].

2.3.2.2 Metabolismus

Nach der Aufnahme wird Cocain im Körper zu den Hauptmetaboliten Benzoylecgonin, Ecgoninmethylester und Ecgonin verstoffwechselt; der aktive Metabolit Norcocain entsteht in geringem Umfang (Abbildung 10). Im Falle eines kombinierten Konsums von Kokain und Alkohol bildet der Körper zusätzlich Cocaethylen.

Aus Cocain bzw. seinen Metaboliten Benzoylecgonin und Norcocain werden weitere Nebenmetaboliten durch Oxidation gebildet; hauptsächlich finden Hydroxylierungen am Phenylrest des Moleküls sowohl in ortho-, meta- und para-Stellung statt. Zusätzlich sind auch Hydroxylierungen an der Ecgoninstruktur beschrieben, diese finden aber zu einem noch geringeren Anteil statt [30].

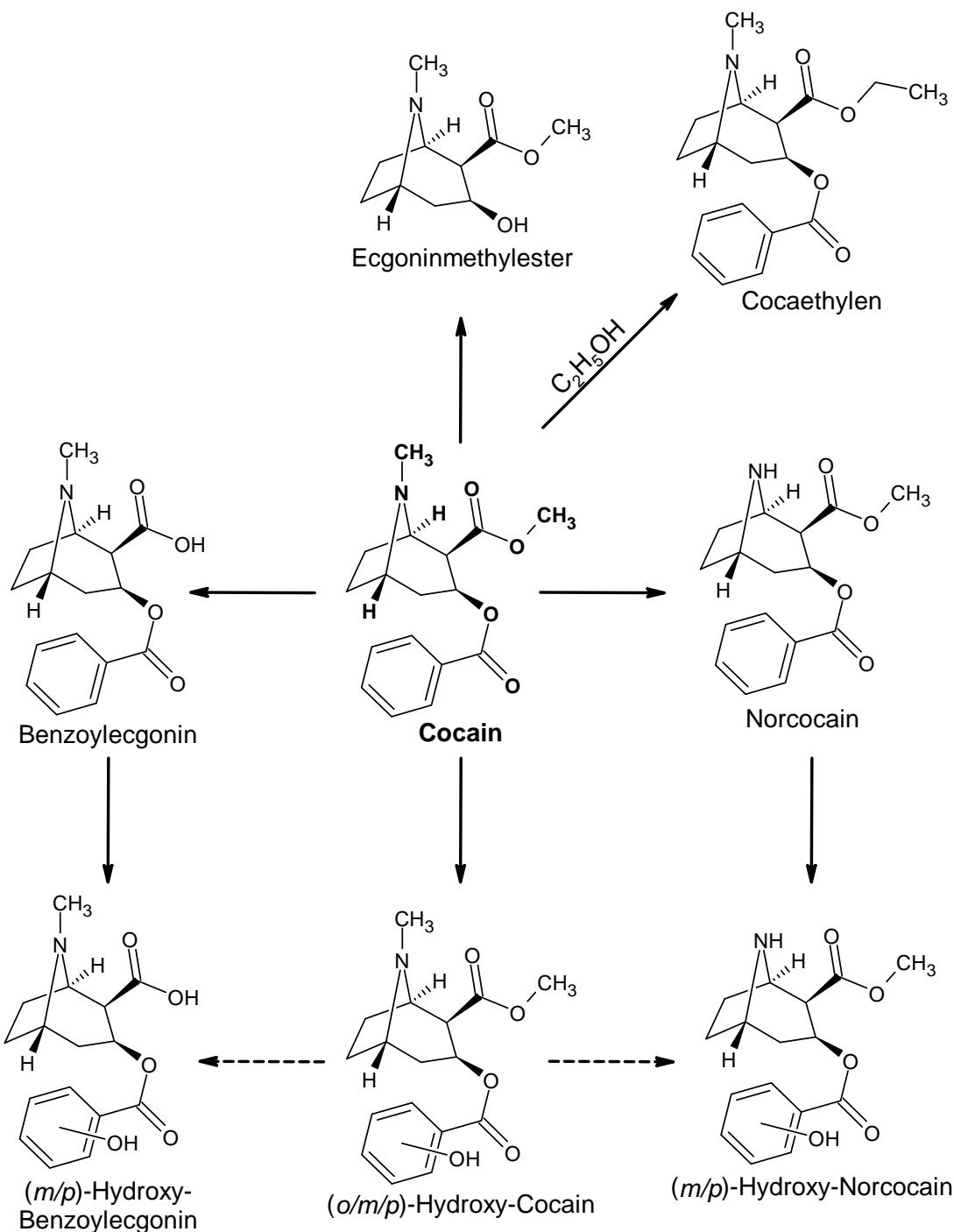


Abbildung 10: Cocain Metabolismus

2.3.2.3 Nachweisverfahren für Cocain in Haarproben und deren Fallstricke

In der Literatur sind zahlreiche Methoden zum Nachweis von Cocain und seinen Metaboliten, vor allem Benzoyllecgonin, in geringerem Umfang auch zu Norcocain und Cocaethylen, in Haarproben beschrieben. Bei den meisten Methoden werden die Proben mit Lösemitteln extrahiert und anschließend chromatografisch analysiert. Nach den Vorgaben der SoHT muss ein Wert größer 0,5 ng Cocain/mg Haar als positiv bewertet werden [15], die Beurteilungskriterien für die Fahreignungsdiagnostik legen als Mindestanforderung an die Bestimmungsgrenze eine Konzentration von 0,1 ng Cocain/mg Haar fest [16].

Da Cocain-Hydrochlorid als sehr feines Pulver vorliegt, ist eine Kontamination von Haaren durch Staub bereits beim Umgang mit Kokain sehr wahrscheinlich. Viele Arbeiten beschäftigen sich daher mit der Abgrenzung eines Konsums von einer externen Kontamination. Neben verschiedenen Methoden, die Cocainkonzentrationen in den Waschlösungen wiederholter Waschprozeduren mit denen im Extrakt zu vergleichen, hat sich der Nachweis von Cocain-Metaboliten als Konsumbeleg etabliert. So wurden z.B. für Benzoylecgonin und Norcocain Anforderungen an ihre Konzentrationsverhältnisse zu Cocain erstellt, um einen Konsum zu belegen. Jedoch sind die diese Metaboliten - Benzoylecgonin kann durch spontane Hydrolyse, Norcocain bei Aufreinigung des Rohextraktes mit Kaliumpermanganat und Cocaethylen bei Verwendung von Ethanol als Extraktionsmittel entstehen - teilweise auch als Verunreinigungen im Straßenkokain beschrieben, sodass deren Nachweis und auch scheinbar korrekte Konzentrationsverhältnisse den Konsum nicht zweifelsfrei beweisen können [31, 32]. In der jüngeren Vergangenheit wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen Methoden zum Nachweis von Hydroxymetaboliten des Cocains in Haaren publiziert [33, 34].

In Veröffentlichung 3 dieser wissenschaftlichen Arbeit wurde eine routinetaugliche Methode zum Nachweis von Hydroxymetaboliten des Cocains in Haarproben etabliert; neben den bereits zuvor in Haarproben beschriebenen Hydroxymetaboliten des Cocains gelang auch der Nachweis von hydroxyliertem Benzoylecgonin und Norcocain, die den Beleg einer Körperpassage zusätzlich stützen.

In Veröffentlichung 2 dieser Arbeit wurden Straßenkokainproben auf die Anwesenheit von Hydroxymetaboliten des Cocains überprüft. Hier konnten hydroxylierte Verbindungen des Cocains als Verunreinigungen nachgewiesen werden. Hydroxylierte Verbindungen von Benzoylecgonin bzw. Norcocain waren in den Stoffproben nicht nachweisbar. In dieser Arbeit konnten daher Konzentrationsverhältnisse der hydroxylierten Verbindungen beider Metabolite zu Cocain erstellt werden, die die Abgrenzung eines Konsums von einer Kontamination ermöglichen.

3 Zusammenfassung

In den Veröffentlichungen im Rahmen dieser wissenschaftlichen Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich eine Untersuchung auf Metaboliten, die durch Oxidation von THC und Cocain, Benzoylecgonin und Norcocain hervorgegangen sind, für einen Konsumnachweis eignet.

Veröffentlichung 1 stellt zum ersten Mal eine praxistaugliche Methode zum Nachweis des primären THC-Metaboliten 11-Hydroxy-THC vor. Hierdurch ergeben sich weitere Beweisanzeichen für einen Konsum von Cannabis. In Veröffentlichung 4 konnte gezeigt werden, dass THC-COOH auch mehrere Monate nach Konsum noch in den Haarproben nachweisbar ist. Ein Grund könnte seine geringere Oxidationsempfindlichkeit gegenüber THC sein.

Mit den Publikationen 2 und 3 konnte gezeigt werden, dass der Nachweis von hydroxylierten Verbindungen des Cocains und seiner Metaboliten in Haarproben möglich ist und sich somit ein Konsum von einer Kontamination abgrenzen lässt. Dabei konnten neue Kriterien für die Abgrenzung eines Konsums von einer Kontamination definiert werden. Hierfür wurden sowohl Metabolit/Cocain-Konzentrationsverhältnisse als auch der Nachweis der nicht in Straßencocain nachweisbaren Metabolite herangezogen.

Die entwickelten Methoden wurden erfolgreich auf ein großes Kollektiv mit verschiedensten Fragestellungen angewendet, um ihre Eignung zum Konsumnachweis zu prüfen. Gerade bei Abstinenzfragestellungen kann der Proband durch die zusätzliche Analyse der Metabolite gegebenenfalls exkulpert werden.

Ergänzend zu den Publikationen wurden in verschiedenen nationalen und internationalen Konferenzbeiträgen Nebenaspekte der hier vorgestellten Studien thematisiert (siehe Anhang C).

4 Abstract

The present studies have shown that additional testing for metabolites being formed by oxidation from THC, cocaine, benzoylecgonine or norcocaine in hair samples is suitable for proving consumption.

Publication 1 presents for the first time a method the determination of the primary THC-metabolite 11-hydroxy-THC which also proved suitable for routine use. This analyte gives further evidence that cannabis has been consumed. Publication 4 shows that the secondary THC-metabolite THC-COOH can be detected in hair samples even several months upon cessation of drug use. A lower susceptibility of THC-COOH towards oxidative stress compared to THC can be considered as a possible reason for this observation.

Publications 2 and 3 demonstrate that hydroxy-cocainics can be detected in hair samples, and that identification of these metabolites enables to differentiate contamination from consumption. Also, new criteria based on metabolite/cocaine concentration ratios could be established, which, in connection with metabolites not being present in seized street cocaine samples allow a distinction between use and contamination.

All methods have successfully been applied to a large number of hair samples addressing different legal issues, to check their suitability regarding drug consumption. If abstinence is questioned additional testing for metabolites may exculpate an individual where appropriate. In addition to publications 1-4, secondary aspects of the above mentioned investigations have been presented on different national and international conferences (Appendix C).

5 Veröffentlichung 1

“Proof of active cannabis use comparing 11-hydroxy- $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol with 11-nor-9- carboxy-tetrahydrocannabinol concentrations”

Franz, Thomas; Skopp, Gisela; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2018)

In: Drug Testing and Analysis 10 (10), S. 1573–1578.

DOI: 10.1002/dta.2415

6 Veröffentlichung 2

“Determination of hydroxy metabolites of cocaine from hair samples and comparison with street cocaine samples”

Franz, Thomas; Scheufler, Frank; Stein, Klaus; Uhl, Michael; Dame, Torsten; Schwarz, Gerlinde; Sachs, Hans[†]; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank (2018)

In: Forensic Science International 288, S. 223–226.

DOI: 10.1016/j.forsciint.2018.04.007.

7 Literaturverzeichnis

1. Kintz P, Salomone A, Vincenti M (2015) Hair analysis in clinical and forensic toxicology. Academic Press, Amsterdam
2. Madea B, Mußhoff F (eds) (2004) Haaranalytik. Technik und Interpretation in Medizin und Recht // Technik und interpretation in medizin und recht. Dt. Ärzte-Verl.; Deutscher Arzte, Köln
3. Cuypers E, Flanagan RJ (2018) The interpretation of hair analysis for drugs and drug metabolites. Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.) 56(2): 90–100. doi: 10.1080/15563650.2017.1379603
4. Hoelzle C, Scheufler F, Uhl M et al. (2008) Application of discriminant analysis to differentiate between incorporation of cocaine and its congeners into hair and contamination. Forensic Sci Int 176(1): 13–18. doi: 10.1016/j.forsciint.2007.07.020
5. (2014) Guidelines for Testing Drugs under International Control in Hair, Sweat and Oral Fluid
6. Pötsch L, Skopp G (2004) Inkorporation von Fremdsubstanzen in Haare. In: Madea B, Mußhoff F (eds) Haaranalytik. Technik und Interpretation in Medizin und Recht // Technik und interpretation in medizin und recht. Dt. Ärzte-Verl.; Deutscher Arzte, Köln, pp 31–98
7. Mußhoff F, Sachs H, Thieme D et al. (2004) Haaranalytik - Eine Einführung. In: Madea B, Mußhoff F (eds) Haaranalytik. Technik und Interpretation in Medizin und Recht // Technik und interpretation in medizin und recht. Dt. Ärzte-Verl.; Deutscher Arzte, Köln, pp 3–16
8. Henderson GL (1993) Mechanisms of drug incorporation into hair. Forensic Sci Int 63(1-3): 19–29
9. (2019) Drogen- und Suchtbericht der Bundesregierung 2019, Berlin
10. Huestis MA (2005) Pharmacokinetics and metabolism of the plant cannabinoids, delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabinol. Handbook of experimental pharmacology(168): 657–690
11. Huestis MA (2007) Human cannabinoid pharmacokinetics. Chemistry & biodiversity 4(8): 1770–1804. doi: 10.1002/cbdv.200790152
12. Dinis-Oliveira RJ (2016) Metabolomics of Δ9-tetrahydrocannabinol: implications in toxicity. Drug metabolism reviews 48(1): 80–87. doi: 10.3109/03602532.2015.1137307
13. Huestis MA, Gustafson RA, Moolchan ET et al. (2007) Cannabinoid concentrations in hair from documented cannabis users. Forensic Sci. Int. 169(2-3): 129–136. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.08.005
14. Musshoff F, Schwarz G, Sachs H et al. (2020) Concentration distribution of more than 100 drugs and metabolites in forensic hair samples. International journal of legal medicine. doi: 10.1007/s00414-020-02259-3

15. Cooper GAA, Kronstrand R, Kintz P (2012) Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic science international* 218(1-3): 20–24. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.10.024
16. Schubert W, Dittmann V, Brenner-Hartmann J (2013) Urteilsbildung in der Fahreignungsbegutachtung. Beurteilungskriterien, 3. Aufl. Schriftenreihe Fahreignung. Kirschbaum-Verl., Bonn
17. Pichini S, Marchei E, Martello S et al. (2015) Identification and quantification of 11-nor-Delta9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid glucuronide (THC-COOH-glu) in hair by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry as a potential hair biomarker of cannabis use. *Forensic Sci Int* 249: 47–51. doi: 10.1016/j.forsciint.2015.01.011
18. Thieme D, Sachs H, Uhl M (2014) Proof of cannabis administration by sensitive detection of 11-nor-Delta(9)-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in hair using selective methylation and application of liquid chromatography- tandem and multistage mass spectrometry. *Drug testing and analysis* 6(1-2): 112–118. doi: 10.1002/dta.1565
19. Dulaurent S, Gaulier JM, Imbert L et al. (2014) Simultaneous determination of Delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol, cannabinol and 11-nor-Delta9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in hair using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Forensic Sci Int* 236: 151–156. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.01.004
20. Al-Zahrani MA, Al-Al-Asmari AI, Al-Zahrani FF et al. (2021) Quantification of Cannabinoids in Human Hair using A modified Derivatisation Procedure and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Drug testing and analysis*. doi: 10.1002/dta.3005
21. Angeli I, Casati S, Ravelli A et al. (2018) A novel single-step GC-MS/MS method for cannabinoids and 11-OH-THC metabolite analysis in hair. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 155: 1–6. doi: 10.1016/j.jpba.2018.03.031
22. Cho HS, Cho B, Sim J et al. (2019) Detection of 11-nor-9-carboxy-tetrahydrocannabinol in the hair of drug abusers by LC-MS/MS analysis. *Forensic Sci. Int.* 295: 219–225. doi: 10.1016/j.forsciint.2018.12.013
23. Cobo-Golpe M, de-Castro-Ríos A, Cruz A et al. (2020) Determination and distribution of cannabinoids in nail and hair samples. *J. Anal. Toxicol.* doi: 10.1093/jat/bkaa164
24. Han E, Chung H, Song JM (2012) Segmental hair analysis for 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid and the patterns of cannabis use. *J. Anal. Toxicol.* 36(3): 195–200. doi: 10.1093/jat/bks010
25. Han E, Park Y, Kim E et al. (2011) Simultaneous analysis of $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy-tetrahydrocannabinol in hair without different sample preparation and derivatization by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of*

- pharmaceutical and biomedical analysis 55(5): 1096–1103. doi: 10.1016/j.jpba.2011.03.020
26. Kuwayama K, Miyaguchi H, Yamamuro T et al. (2016) Highly sensitive quantification of unconjugated 11-nor-9-carboxy- Δ (9)-tetrahydrocannabinol in a cannabis user's hair using micropulverized extraction. *Forensic Sci. Int.* 262: e34-6. doi: 10.1016/j.forsciint.2016.03.009
27. Minoli M, Angeli I, Ravelli A et al. (2012) Detection and quantification of 11-nor- Δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in hair by GC/MS/MS in Negative Chemical Ionization mode (NCI) with a simple and rapid liquid/liquid extraction. *Forensic Sci. Int.* 218(1-3): 49–52. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.10.014
28. Thieme D, Sachs U, Sachs H et al. (2015) Significant enhancement of 11-Hydroxy-THC detection by formation of picolinic acid esters and application of liquid chromatography/multi stage mass spectrometry (LC-MS(3)): Application to hair and oral fluid analysis. *Drug testing and analysis* 7(7): 577–585. doi: 10.1002/dta.1739
29. Wilkins D, Haughey H, Cone E et al. (1995) Quantitative Analysis of THC, 11-OH-THC, and THCCOOH in Human Hair by Negative Ion Chemical Ionization Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol* 19(6): 483–491. doi: 10.1093/jat/19.6.483
30. Cone EJ, Tsadik A, Oyler J et al. (1998) Cocaine metabolism and urinary excretion after different routes of administration. *Therapeutic Drug Monitoring* 20(5): 556–560. doi: 10.1097/00007691-199810000-00019
31. Tsanaclis L, Andraus M, Wicks J (2018) Hair analysis when external contamination is in question: A review of practical approach for the interpretation of results. *Forensic Sci. Int.* 285: 105–110. doi: 10.1016/j.forsciint.2018.01.028
32. Tsanaclis L, Nutt J, Bagley K et al. (2014) Differentiation between consumption and external contamination when testing for cocaine and cannabis in hair samples. *Drug testing and analysis* 6 Suppl 1: 37–41. doi: 10.1002/dta.1623
33. Schaffer M, Cheng C-C, Chao O et al. (2016) Analysis of cocaine and metabolites in hair: validation and application of measurement of hydroxycocaine metabolites as evidence of cocaine ingestion. *Anal Bioanal Chem* 408(8): 2043–2054. doi: 10.1007/s00216-016-9354-x
34. Morris-Kukoski CL, Montgomery MA, Hammer RL (2014) Analysis of extensively washed hair from cocaine users and drug chemists to establish new reporting criteria. *J Anal Toxicol* 38(9): 628–636. doi: 10.1093/jat/bku099

Anhang A: Veröffentlichung 3

“Determination of hydroxy metabolites of cocaine in hair samples for proof of consumption.”

Musshoff, Frank; Thieme, Detlef; Schwarz, Gerlinde; Sachs, Hans[†]; Skopp, Gisela; Franz, Thomas (2018)

In: Drug Testing and Analysis 10 (4), S. 681–688.

DOI: 10.1002/dta.2317.

Anhang B: Veröffentlichung 4

“Positive THC-COOH findings in hair samples negative for THC”

Musshoff, Frank; Skopp, Gisela; Franz, Thomas (2020)

In: Drug Testing and Analysis 12 (1), S. 156–158.

DOI: 10.1002/dta.2696.

Anhang C: weitere Veröffentlichungen und Beiträge

C.1 Veröffentlichungen in Fachzeitschriften

1. Musshoff, F.; Schwarz, G.; Sachs, H.; Skopp, G.; Franz, T. (2020): Concentration distribution of more than 100 drugs and metabolites in forensic hair samples. In: International journal of legal medicine. DOI: 10.1007/s00414-020-02259-3.
2. Franz, T.; Skopp, G.; Mußhoff, F. (2021): Findings of illicit drugs in hair of children at different ages. In: International journal of legal medicine. DOI: 10.1016/j.forsciint.2019.01.039.

C.2 Konferenzbeiträge

C.2.1 Vorträge

1. Franz, Thomas; Thieme, Detlef; Schwarz, Gerlinde; Sachs, Hans; Musshoff, Frank (2015): Evaluation of active cannabis consumption via testing of the THC-metabolites 11-hydroxy-THC and 11-nor-carboxy-THC. XIX. Symposium der GTFCh. Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie. Mosbach, 18.04.2015.
2. Franz, Thomas; Steinmetz, Stefanie; Dame, Torsten; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2015): Determination of Hydroxy Metabolites of Cocaine in hair samples for proof of definite consumption. 53rd Annual Meeting. The International Association of Forensic Toxicologists. Florenz, 03.09.2015.
3. Franz, Thomas; Scheufler, Frank; Stein, Klaus; Uhl, Michael; Dame, Torsten; Schwarz, Gerlinde et al. (2017): Determination of cocaine metabolites in hair samples – Comparison with street cocaine samples. XX. Symposium der GTFCh. Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie. Mosbach, 28.04.2017.
4. Franz, Thomas; Scheufler, Frank; Stein, Klaus; Uhl, Michael; Dame, Torsten; Schwarz, Gerlinde et al. (2017): Determination of hydroxy-metabolites in hair samples and comparison with street cocaine samples. 22nd Scientific Meeting. Society of Hair Testing (SoHT). Cardiff, 14.06.2017.
5. Franz, Thomas; Skopp, Gisela; Jofer, Lisa; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2018): Does in vitro cosmetical treatment influence cocaine metabolite concentrations in hair? 53th Annual Meeting. The International Association of Forensic Toxicologists. Ghent, 29.08.2018.
6. Franz, Thomas; Schwarz, Gerlinde; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank (2019): Proof of cocaine use by minor metabolites in hair – Comparison of results from 2 different

collectives. XXI. Symposium der GTFCh. Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie. Mosbach, 13.04.2019.

7. Franz, Thomas; Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank (2020): Opioide - Prävalenz nicht überprüfter Medikation oder nicht entdecktem Missbrauch bei chemisch-toxikologischen Abstinenzkontrollen im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik. Forum für Verkehrssicherheit. München, 06.03.2020.

C.2.2 Posterbeiträge

1. Franz, Thomas; Sachs, Hans; Thieme, Detlef; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2014): Überprüfung eines Cannabiskonsums über THC-COOH und 11-OH-THC in Haaren als Beleg einer Körperpassage. 10. Gemeinsames Symposium. Deutsche Gesellschaft für Verkehrsmedizin; Deutsche Gesellschaft für Verkehrspychologie. München, 05.09.2014.
2. Franz, Thomas; Sachs, Hans; Thieme, Detlef; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2014): Determination of THC metabolites THC-COOH and 11-OH-THC in hair samples for proof of active cannabis consumption. 52nd Annual Meeting. The International Association of Forensic Toxicologists. Buenos Aires, 09.11.2014.
3. Franz, Thomas; Sachs, Hans; Schwarz, Gerlinde; Musshoff, Frank (2015-2015): Influence of the sample preparation for the determination of THC and the Metabolites THC-OH and THC-COOH in hair samples. 53rd Annual Meeting. The International Association of Forensic Toxicologists. Florenz, 31.08.2015-01.09.2015.
4. Musshoff, Frank; Steinmetz, Stefanie; Dame, Torsten; Sachs, Hans; Schwarz, Gerlinde; Franz, Thomas (2015): Hydroxy-Metaboliten von Cocain in Haaren zum Beweis eines tatsächlichen Konsums. 11. Gemeinsames Symposium. Deutsche Gesellschaft für Verkehrsmedizin; Deutsche Gesellschaft für Verkehrspychologie. St. Gallen, 25.09.2015.

8 Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich bei allen, die mich bei der Anfertigung dieser wissenschaftlichen Arbeit unterstützt haben.

Allen voran bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Frank Mußhoff für die Schaffung der wissenschaftlichen Stelle zur Durchführung dieses Promotionsprojektes im FTC München und die wissenschaftliche Betreuung des Projektes.

Besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Gisela Skopp, welche durch ihr enormes Fachwissen viele Diskussionspunkte beim Entwurf und der Revision der Publikationen gegeben hat.

Dank gilt allen Ko-Autoren der Veröffentlichungen, nur durch diese kooperative Zusammenarbeit ließ sich dieses Projekt realisieren.

Vielen Dank allen Kollegen des FTC München, welche mir immer mit Rat und Tat zu Seite standen. Hier konnte ich mich sehr gut in die Haaranalytik einarbeiten und viele Ideen verwirklichen.

Großer Dank gilt meinen Eltern und meiner Familie, ohne sie wäre ich heute nicht der, der ich bin. Mit Ihnen habe ich sehr gute Ratgeber für alle Lebenslagen, welche mich während der Studienzeit immer mit Rat zur Seite standen und mich unterstützt haben

Vielen Dank hier auch an meine Frau, welche mich in der Endphase der Arbeit unermüdlich angetrieben hat, nun doch endlich mal fertig zu werden.