

## **Tetrahydrocannabinole im Haar von Haschischrauchern**

**S. Balabanova<sup>1</sup>, P. J. Arnold<sup>2</sup>, V. Luckow<sup>2</sup>, H. Brunner<sup>3</sup> und H. U. Wolf<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Institut für Rechtsmedizin, Universität Ulm, Prittwitzstrasse 6, D-7900 Ulm, Bundesrepublik Deutschland

<sup>2</sup>Pharmakin GmbH, Graf-Arco-Strasse 3, D-7900 Ulm, Bundesrepublik Deutschland

<sup>3</sup>Abteilung Pharmakologie und Toxikologie, Oberer Eselsberg, D-7900 Ulm, Bundesrepublik Deutschland

### **Tetrahydrocannabinole in the hair of hashish smokers**

**Summary.** The study investigates the presence of tetrahydrocannabinols in the head hair and the pubic and axillary hair. The hair samples were obtained from hashish smokers. The concentrations were determined by radioimmunoassay and reflect total tetrahydrocannabinols and metabolites. The values found ranged from 0.4 ng/mg hair up to 3.8 ng/mg hair. The presence of the drug in the hair samples was also demonstrated by GC/MS.

**Key word:** Tetrahydrocannabinols, in head hair pubic and axillary hair

**Zusammenfassung.** Es wurden Untersuchungen zum Nachweis von Tetrahydrocannabinolen in Kopf-, Achsel- und Schamhaaren, gewonnen von Haschischrauchern, durchgeführt. Die gemessenen Konzentrationen, die mittels Radioimmunoassay bestimmt wurden, lagen im Bereich von 0,4 ng/mg Haare bis zu 3,8 ng/mg Haare. Die Werte stellen die Summe von Tetrahydrocannabinolen und Metaboliten dar. Das Vorhandensein der Droge in den Haarproben wurde zusätzlich mittels GC/MS nachgewiesen.

**Schlüsselwort:** Tetrahydrocannabinole, in Kopf-, Achsel- und Schamhaaren

### **Einleitung**

Tetrahydrocannabinole, stickstofffreie Verbindungen, sind wirksame Bestandteile des Cannabis (indischer Hanf), bekannt unter der arabischen Bezeichnung „Haschisch“. Der Gebrauch von Haschisch in Form von Getränken, Konfekt,

Zigaretten oder Wasserpfeifen ist in Asien und Afrika seit Jahrhunderten, in Amerika seit Jahrzehnten bekannt und hat sich in den letzten Jahren auch in Europa verbreitet. Obwohl in der Bundesrepublik Deutschland Haschisch dem Opiumgesetz unterliegt, ist die Substanz, ähnlich wie die legale Droge Alkohol, ein gesellschaftliches Genußmittel geworden.

Über Untersuchungen von Tetrahydrocannabinolen im Blut und Urin mittels Gaschromatographie, Gaschromatographie/Massenspektrometrie, Enzymimmunoassay und Radioimmunoassay, liegen eine Reihe von Arbeiten vor (Wall et al. 1972; Teale et al. 1975; Soares und Gross 1976; Wall and Brine 1976; Rodgers et al. 1978; Hanson et al. 1983; Pereg-Reyes et al. 1983; Schwartz und Hawks 1985). Über den Nachweis der Substanzen in Haaren sind bisher keine Veröffentlichungen bekannt.

Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob die Tetrahydrocannabinole in menschlichen Haaren vorhanden sind und wenn ja, ob auch nicht metabolisiertes, reines delta-9-Tetrahydrocannabinol (delta-9-THC) im Haar vorliegt. Dieser Nachweis ist letztendlich zur Klärung von Verkehrsdelikten und kriminellen Taten von Bedeutung.

## Material und Methoden

### *Untersuchungsmaterial*

Für die Bestimmungen von Tetrahydrocannabinolen wurde Kopfhair von 11 Patienten, bei denen ein Drogenkonsum von 10 bis 20 mg delta-9-THC etwa 3mal pro Woche vorlag, gewonnen. Aussagen über die exakte Dosis sind nicht möglich, da der Wirkstoffgehalt des Cannabis unterschiedlich ist. Von den Patienten Nummer 6, 7, 8, 9 und 10 wurden zusätzlich Scham- und Achselhaare entnommen. Kopf-, Achsel- und Schamhaare wurden auch von dem Patienten Nummer 11, der bis vor zehn Monaten Haschisch geraucht hatte, gewonnen.

### *Vorbereitung der Proben*

Die Vorbereitung der Proben für die radioimmunologische Bestimmung ist in einer früheren Arbeit ausführlich beschrieben (Balabanova et al. 1987) worden. Nach Waschen der Haare wurden 50 mg mit 0,1 M HCl bei 45°C über 24 Std inkubiert. Das Hydrolysat wurde mit 1 M NaOH alkalisiert und mit Phosphat Puffer auf pH 7,4 gebracht.

### *RIA*

Der radioimmunologische Nachweis der Droge (Kits der Firma Biermann, FRG) erfaßt quantitativ die Summe von Tetrahydrocannabinolen (delta-9-THC, delta-6-THC, delta-9-THC-Carbonsäure) und Metaboliten. Als Antikörper wurde Ziegenantikörper, als Standard 11-nor-delta-9-THC-9-Carbonsäure verwendet. Die Ergebnisse wurden in 11-nor-delta-9-THC-9-Carbonsäure-Äquivalent-Konzentrationen/mg Haar angegeben. Die Eichkurve erfaßte den Bereich von 6,2 bis 150 ng/ml. Die Ergebnisse wurden danach in ng Äquivalent/mg Haare umgerechnet. Die Kreuzreaktion des verwendeten THC-Assays mit je 100 ng/ml delta-9-THC, delta-6-THC, 11-nor-delta-9-THC-9-Carbonsäure und delta-6-THC-11-Carbonsäure lag bei 100%. Die Kreuzreaktion mit dem Cannabinol und Cannabidiol (100 ng/ml) lag unter 0,001%. Die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten lagen bei 5,2% ( $n = 6$ ) und 7,3% ( $n = 21$ ). Als Kontrolle dienten Haarproben, die von einem Kollektiv von Personen, bei denen kein Drogenmißbrauch vorlag, gewonnen wurden. Die nicht spezifischen Bindung (counts per

minute = cpm) des Assays, der Haarproben von Drogenabhängigen und Kontrollhaaren lagen bei: 2.520 cpm, 2.395 cpm und 2.586 cpm (Mittelwerte von je 3 Bestimmungen).

#### *Gaschromatographie-Massenspektrometrie*

Die Analysen wurden mit einem Gaschromatograph/Massenspektrometer (GC/MS), bestehend aus einem GC 5890 A und einem MS 5988 A (Hewlett-Packard), ausgeführt. Die Trennung erfolgte auf einer DB-1-Kapillarsäule (30 m × 0,32 i. d.). Als Trägergas wurde Helium verwendet, die Fließgeschwindigkeit betrug 2 ml/min. Die Injektion war eine splitlose Injektion bei einer Verdampfungstemperatur von 280°C. Die Anfangstemperatur lag bei 150°C mit einer Erhöhungsrate von 20°C/min. Die Temperatur der Ionenquelle betrug 250°C. EI war 70 eV.

Zur Identifizierung wurden folgende Ionen gemessen:  $m/z = 231, 243, 271$  und 299.

Für die GC/MS-Bestimmungen wurden zu den Haarhydrolysaten (pH 7,4) 2 ml gesättigte  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung zugesetzt. Nach Extraktion mit n-Hexan wurden die Extrakte unter  $\text{N}_2$  eingedunstet und in den GC/MS injiziert.

## Ergebnisse

### RIA

Mittels RIA wurden in den Haarproben von Drogenabhängigen meßbare Konzentrationen gefunden. Die gemessenen Werte – Summe von Tetrahydrocannabinolen und Metaboliten – sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Bei Patient Nummer 11, der bis vor zehn Monaten Haschisch geraucht hatte, wurden im Kopfhaar keine Konzentrationen gefunden. Im Achsel- und Schamhaar lagen die Konzentrationen bei 0,5 ng/mg Haar. Die cpm, gemessen in den Haarproben des Kontrollkollektivs, lagen in dem Bereich von 49.245 bis 53.317 cpm. Die cpm für Null-Standard lagen im Bereich von 49.994 bis 50.172 cpm.

**Tabelle 1.** Konzentrationen von Tetrahydrocannabinolen und Metaboliten angegeben in 11-nor-delta-9-THC-9-Carbonsäure (ng/mg Haare) in Kopf-, Scham- und Achselhaaren

Patienten- Nummer	Kopfhaar	Schamhaar	Achselhaar
1	2.9		
2	0.8		
3	1.0		
4	0.8		
5	1.4		
6	3.1	3.8	1.9
7	2.8	1.5	0.8
8	1.1	1.2	1.1
9	2.8	1.6	1.6
10	1.8	1.9	0.4
11	0.0	0.5	0.5

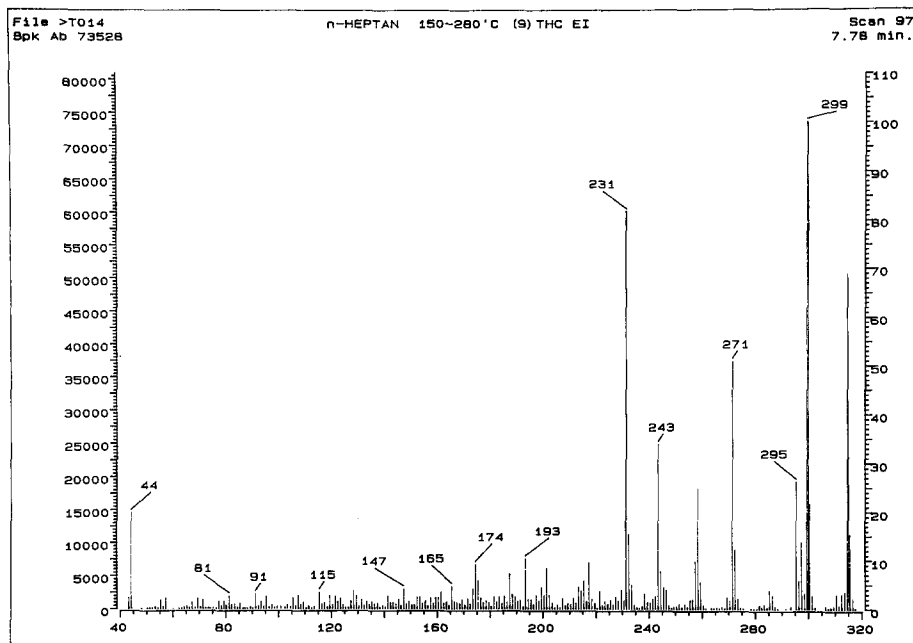


Abb.1. Massenspektrum von delta-9-THC

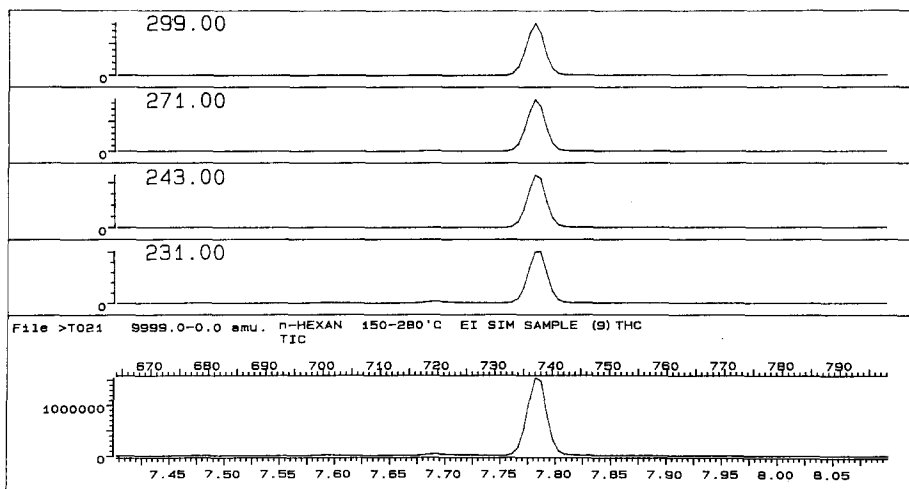


Abb.2. Chromatogramm von delta-9-THC

### GC/MS

Das Massenspektrum des delta-9-THC ist in Abb.1, das Chromatogramm in Abb.2 wiedergegeben. Die Konzentrationen der Droge in den Haarproben lagen im Spurenbereich, waren jedoch eindeutig vorhanden. Abb.3 zeigt das Chromatogramm des delta-9-THC, nachgewiesen im Schamhaar von Patient Nummer 6.

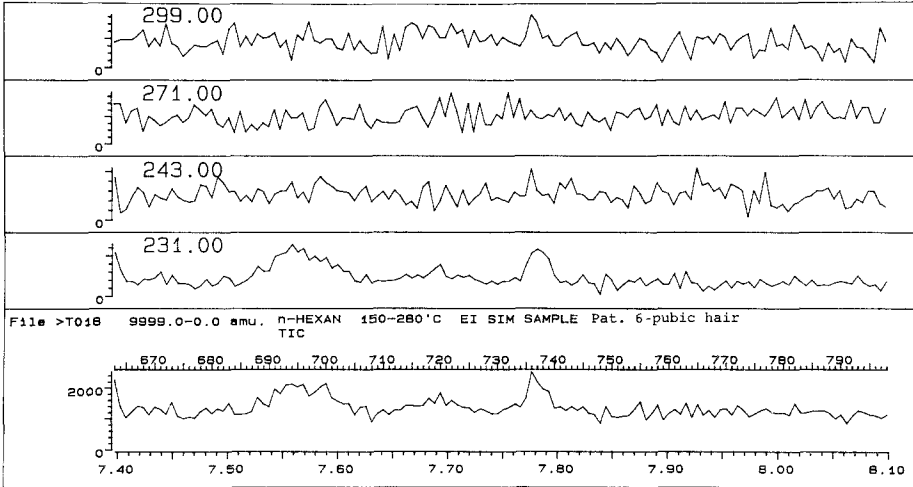


Abb. 3. Chromatogramm eines Extrakts einer Haarprobe (Schamhaar von Patient Nummer 6)

## Diskussion

Die Tetrahydrocannabinoile werden im Körper schnell metabolisiert. Schon wenige Minuten nach intravenöser Gabe von delta-9-THC wurden im Plasma Metabolite nachgewiesen (Lemberger et al. 1970). Die aktiven Metaboliten der Tetrahydrocannabinoile sind 11-Hydroxy-delta-9-THC und 8 $\beta$ -hydroxy-delta-9-THC. 11-Hydroxy-delta-9-THC wird weiter zur 11-nor-delta-9-THC-Carbonsäure metabolisiert. Es entstehen auch andere Mono- oder Di-Carbonsäuren, die wiederum zu Glucocorticoiden metabolisiert werden.

Der in diesem Assay verwendete Antikörper erfäßt – wie oben gesagt – die Tetrahydrocannabinoile und deren Metaboliten. Somit stellen unsere Ergebnisse die Summe von Tetrahydrocannabinolen und Metaboliten dar. Die nachgewiesenen Konzentrationen, angegeben in 11-nor-delta-9-THC-9-Carbonsäure-Äquivalent zeigen, daß die Substanzen in Kopf-, Scham- und Achselhaaren abgelagert werden.

Bei dem Patient, der bis vor zehn Monaten Haschisch geraucht hat, wurden im Kopfhair keine meßbaren Konzentrationen nachgewiesen. Im Achsel- und Schamhaar wurden Werte von 0,5 ng/mg Haar gefunden. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß die Achsel- bzw. Schamhaare ein wesentlich langsames Wachstum als die Kopfhare und eine geringere Länge (maximal 6 cm) vorweisen (Trotter 1963). Somit sind die Drogen in diesen Haaren in höheren Konzentrationen abgelagert und länger vorhanden.

Der radioimmunologische Nachweis der Droge wurde auch mittels GC/MS-Verfahren bestätigt. Dieses Verfahren ist spezifisch. Es erfäßt nicht die Summe von Tetrahydrocannabinolen und Metaboliten, sondern jede einzelne Substanz. Wir haben das Vorhandensein des reinen delta-9-THC im Haar untersucht. Delta-9-THC ist biologisch wirksam. Im Körper wird es – wie oben erwähnt – sehr schnell metabolisiert. Nicht metabolisiertes delta-9-THC ist im Plasma nur

wenige Stunden, im Urin in sehr geringen Konzentrationen vorhanden. Unsere GC/MS-Bestimmungen zeigen, daß delta-9-THC im Haar zwar in sehr niedrigen Konzentrationen, doch immerhin vorhanden ist. Dieser Nachweis bestätigt einerseits den radioimmunologischen Befund (Summe von Tetrahydrocannabinolen und Metaboliten), andererseits zeigt er, daß auch nicht metabolisiertes, reines THC im Haar abgelagert wird.

Zusammenfassend konnten wir mittels zweier unabhängiger Methoden – RIA und GC/MS – nachweisen, daß Haschisch in das Haar transportiert und dort abgelagert wird.

## Literatur

- Balabanova S, Brunner H, Nowak R (1987) Radioimmunological determination of cocaine in human hair. *Z Rechtsmed* 98:229–234
- Hanson VW, Buonarati MH, Baselt RC, Wade NA, YEP C, Biasotti AA, Reeve VC, Wong AS, Orbanowsky MW (1983) Comparison of  $^3\text{H}$  and  $^{125}\text{I}$  Radioimmunoassay and Gas Chromatography/Mass Spectrometry for the determination of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabinoids in blood and serum. *J Anal Toxicol* 7:96–102
- Lemberger L, Silberstein SD, Axelrod J, Kopin IJ (1970) Marihuana: studies on the desposition and metabolism of delta-9-tetrahydrocannabinol in man. *Science* 170:1320ff
- Perec-Reyes M, Di Guiseppi S, Mason AP, Davis KH (1983) Passive inhalation of marijuana smoke and urinary excretion of cannabinoids. *Clin Pharmacol Ther* 34:36–41
- Rodgers R, Crowl CP, Eimstad WM, et al (1978) Homogenous enzyme immunoassay for cannabinoids in urine. *Clin Chem* 24:95–100
- Schwartz RH, Hawks RL (1985) Laboratory detection of marijuana use. *J Am Med Assoc* 254(6):788–792
- Soares JR, Gross SJ (1976) Separate radioimmune measurements of body fluid delta-9-THC and 11-Nor-9-carboxy-delta-9-THC. *Life Sci* 19:1711–1718
- Teale JD, Foxman EJ, King LS, Pial EM, Marks V (1975) The development of a radioimmunoassay for cannabinoids in blood and urine. *J Pharm Pharmacol* 27:465–472
- Trotter M (1963) The hair. In: Cowdry EV (Ed.) *Special cytology. The form and functions of the cell in health and disease*. Hasner Publishing Comp Inc, New York Cadon 55–56
- Wall ME, Brine DP, Pitt CG, Perez-Reys M (1972) Identification of 9-tetrahydrocannabinol and metabolites in man. *J Am Chem Soc* 94:8579–8571
- Wall ME, Brine D (1976) Identification of cannabinoids and metabolites in biological materials by combined gas-liquid chromatography-mass spectrometry. In: Nahas G (Ed.) *Marihuana Chemistry, Biochemistry, and Cellular Effects*, New York, Springer, Berlin Heidelberg New York

Eingegangen am 10. Januar 1989