

SYNTHETISCHE CANNABINOIDE IN DER FORENSISCHEN ANALYTIK

VON DER SUBSTANZIDENTIFIZIERUNG IN RÄUCHERMISCHUNGEN BIS ZUM NACHWEIS IN FORENSISCH RELEVANTEN MATRICES



INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der Fakultät für Chemie und Pharmazie

der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

vorgelegt von

Stefan Kneisel

aus Halle (Saale)

2013

Die praktischen Arbeiten zur Erstellung der vorliegenden Dissertation wurden im Zeitraum von Januar 2010 bis Dezember 2012 am Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg durchgeführt.

Vorsitzender des Promotionsausschusses:

Referent:

Betreuer der Arbeit und Korreferent:

Prof. Dr. Thorsten Koslowski

Prof. Dr. Michael Müller

PD. Dr. Volker Auwärter

Datum der Promotion:

16.12.2013

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1
1 Cannabinoide und das Endocannabinoidsystem	1
2 Synthetische Cannabinoide	2
2.1 Strukturelle Klassifizierung	2
2.2 Charakteristika ausgewählter Strukturklassen.....	4
2.2.1 Substanzen vom Cyclohexylphenol-Typ	4
2.2.1.1 Entwicklungshintergründe.....	4
2.2.1.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	5
2.2.2 Substanzen vom Indol-Typ	6
2.2.2.1 Entwicklungshintergründe.....	6
2.2.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	7
3 Synthetische Cannabinoide in Drogenzubereitungen	9
3.1 Räuchermischungen	9
3.2 Konsummotivation.....	11
4 Ziele der Arbeit	12
ERGEBNISSE UND DISKUSSION	13
1 Identifizierung neuartiger synthetischer Cannabinoide	13
1.1 Einleitende Vorbetrachtungen.....	13
1.2 Fallbeispiel 1	13
1.2.1 Strukturelle Charakterisierung mittels MS	13
1.2.2 Strukturelle Charakterisierung mittels NMR	16
1.2.3 Beurteilung von AB-001 im forensisch-toxikologischen Kontext.....	18
1.3 Fallbeispiel 2	18
1.3.1 Strukturelle Charakterisierung mittels MS	18
1.3.2 Strukturelle Charakterisierung mittels NMR	23
1.3.3 Beurteilung von AM-1220 und dessen Azepan-Isomer im forensisch-toxikologischen Kontext ...	26
1.3.4 Unterschiede in den EI-Fragmentierungsmustern von AM-1220 und dessen Azepan-Isomer	26
1.3.5 Postulierter Reaktionsmechanismus zur Bildung des Azepan-Isomers.....	27
1.4 Ergebnisse des Produktmonitorings und Marktentwicklung während des Beobachtungszeitraumes...	28
1.5 Schlussfolgerungen	30

2	Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben	33
2.1	Einleitende Vorbetrachtungen	33
2.2	Entwicklung der verwendeten LC/ESI-MS/MS-Methode(n)	34
2.3	Validierungsergebnisse	36
2.4	Leistungsgrenzen der LC/ESI-MS/MS-Methode	39
2.5	Erneute Erweiterungen der LC/ESI-MS/MS-Methode	40
2.6	Anwendung der Serumanalytik in der forensisch- und klinisch-toxikologischen Fallarbeit	42
2.6.1	Einleitende Vorbetrachtungen	42
2.6.1.1	Qualitative und quantitative Betrachtungen	43
2.6.1.2	Schlussfolgerungen	46
2.6.2	Toxikologische Beurteilung synthetischer Cannabinoide anhand klinischer Notfälle	47
2.6.2.1	Einleitende Vorbetrachtungen	47
2.6.2.2	Ergebnisse der toxikologischen Analysen	49
2.6.2.3	Klinisch-symptomatische Erscheinungsbilder und Verläufe	50
2.6.2.4	Befundinterpretation und Diskussion	55
2.6.2.5	Schlussfolgerungen	61
2.6.3	Straßenverkehrsdelikte	61
2.6.3.1	Einleitende Vorbetrachtungen	61
2.6.3.2	Fallbeispiel 3	62
2.6.3.3	Fallbeispiel 4	63
2.6.3.4	Fallbeispiel 5	63
2.6.3.5	Schlussfolgerungen	64
2.6.4	Untersuchungen zur Langzeitnachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben	65
2.6.4.1	Einleitende Vorbetrachtungen	65
2.6.4.2	Fallbeispiele 6 und 7	66
2.6.4.3	Fallbeispiele 8 bis 13	67
2.6.4.4	Expositionsversuche 1 und 2	69
2.6.4.5	Schlussfolgerungen	70
3	Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Oral Fluid-Proben	73
3.1	Einleitende Vorbetrachtungen	73
3.2	Nachweis von synthetischen Cannabinoiden in OF mithilfe des Dräger DCD 5000 Probensammlers	75
3.2.1	Entwicklung der Nachweismethode	76
3.2.2	Validierungsergebnisse	77
3.2.3	Ergebnisse authentischer, gepaarter Serum- und OF-Proben	78
3.2.4	Schlussfolgerungen	82
3.3	Nachweis von synthetischen Cannabinoiden in neat OF mithilfe des Biophor RapidEASE Probensammlers	83

3.3.1	Entwicklung der Nachweismethode.....	84
3.3.2	Validierungsergebnisse.....	84
3.3.3	Untersuchungen zur Nachweisbarkeit von synthetischen Cannabinoiden in authentischen nOF-Proben	85
3.3.3.1	Expositionsversuch 3	85
3.3.3.2	Expositionsversuch 4	86
3.3.3.3	Schlussfolgerungen	90
3.3.4	Stabilität ausgewählter synthetischer Cannabinoide in authentischen nOF-Proben in Abhängigkeit des Probengefäßes	91
3.3.4.1	Einleitende Vorbetrachtungen.....	91
3.3.4.2	Ergebnisse.....	93
3.3.4.3	Schlussfolgerungen	97
ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK		99
MATERIAL UND METHODEN.....		105
1	Chemikalien und Standardsubstanzen.....	105
2	Verbrauchsmaterialien	107
3	Geräte, Analysensysteme und Software.....	107
4	Reagenzien und Lösungen	108
4.1	Laufmittel für Dünnschichtschromatographie	108
4.2	Laufmittel A ₁ für Flash-Chromatographie	108
4.3	Natriumcarbonat-Lösung (0,1 M)	109
4.4	Natriumhydrogencarbonat-Lösung (0,1 M)	109
4.5	Carbonatpuffer (pH 10).....	109
4.6	Gemisch zur flüssig-flüssig-Extraktion synthetischer Cannabinoide aus humanen Serum- und OF-Proben	109
4.7	Laufmittel A ₂ für LC/ESI-MS/MS-Analytik	109
4.8	Stamm- und Arbeitslösungen	110
5	Experimentelle und präparative Arbeiten	113
5.1	Aufarbeitung der Räuchermischungen	113
5.2	Methoden zur Isolierung und Aufreinigung synthetischer Cannabinoide aus Räuchermischungen oder Feststoffgemischen.....	113
5.2.1	Dünnschichtchromatographie	113
5.2.2	Flash-Chromatographie	113

5.3	Analyse humaner Serumproben auf synthetische Cannabinoide	114
5.3.1	Erhalt von drogenfreiem Humanserum.....	114
5.3.2	Extraktion synthetischer Cannabinoide aus authentischen Serumproben	114
5.3.3	Methodenvalidierung.....	115
5.3.3.1	Selektivität	115
5.3.3.2	Linearität.....	115
5.3.3.3	Analytische Grenzen	115
5.3.3.4	Richtigkeit und Impräzision.....	116
5.3.3.5	Matrixeffekte, Wiederfindung und Prozessausbeute	116
5.3.3.6	Autosamplerstabilität	117
5.3.3.7	Einfrier-/Auftaustabilität und Langzeitstabilität.....	118
5.3.3.8	Carry-over Effekte	118
5.3.4	Untersuchungen zur Langzeitnachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben, Studiendesign	119
5.4	Analyse humaner OF-Proben auf synthetische Cannabinoide.....	119
5.4.1	Erhalt von drogenfreiem OF	119
5.4.2	OF-Probennahme mit dem Dräger DCD 5000 Probensammler	119
5.4.3	Extraktion synthetischer Cannabinoide aus authentischen OF-Proben	120
5.4.4	Extraktion synthetischer Cannabinoide aus OF-Validierungsproben	120
5.4.5	Methodenvalidierung.....	120
5.4.5.1	Linearität.....	121
5.4.5.2	Richtigkeit und Impräzision.....	121
5.4.5.3	Autosamplerstabilität	121
5.4.5.4	Wiederfindung der Analyten bei Verwendung des Dräger DCD 5000	121
5.4.5.5	Einfrier-/Auftaustabilität.....	122
5.5	Analyse humaner nOF-Proben auf synthetische Cannabinoide	122
5.5.1	Erhalt von drogenfreiem nOF	122
5.5.2	nOF-Probennahme mit dem Biophor RapidEASE Probensammler	122
5.5.3	Extraktion synthetischer Cannabinoide aus authentischen nOF-Proben	122
5.5.4	Methodenvalidierung.....	123
5.5.4.1	Linearität.....	123
5.5.4.2	Richtigkeit und Impräzision.....	123
5.5.4.3	Einfrier-/Auftaustabilität.....	123
5.5.4.4	Carry-over Effekte	124
5.5.5	Expositionsversuch 3, Studiendesign	124
5.5.6	Expositionsversuch 4, Studiendesign	124
5.5.7	Untersuchungen zur Stabilität ausgewählter synthetischer Cannabinoide in authentischen nOF-Proben in Abhängigkeit des Probengefäßes, Studiendesign	125
5.6	Analytische Methoden.....	125

5.6.1	Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS).....	125
5.6.2	Hochaufgelöste Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC/HR-MS/MS)	126
5.6.3	Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)	127
5.6.4	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC/ESI-MS/MS)	127
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS		131
ANHANG.....		133
1	Bioassays zur pharmakologischen Charakterisierung von synthetischen Cannabinoiden	133
1.1	In vivo Bioassays	133
1.1.1	Tetrad-Modell.....	133
1.1.1.1	Antinozizeption/Tail-Flick-Test	133
1.1.1.2	Hypothermie.....	133
1.1.1.3	Katalepsie/Ring-Immobilitätstest.....	134
1.1.1.4	Sedierung/Spontanmotorische Aktivität	134
1.1.2	Dog static ataxia-Modell.....	134
1.1.3	Drug discrimination-Modell	134
1.1.4	Anmerkungen zur Eignung von in vivo Assays.....	135
1.2	Ex vivo Bioassays.....	135
1.3	In vitro Bioassays	136
1.3.1	Bindungsaffinitätsassays	136
1.3.2	Aktivitätsassays	137
1.3.2.1	Forskolin-stimuliertes cAMP-Assay.....	137
1.3.2.2	[³⁵ S]GTPγS-Assay.....	137
1.3.3	Einfluss experimenteller Bedingungen auf in vitro Daten	138
2	Weiterführende Informationen zu in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoiden	139
2.1	Strukturformeln, Summenformeln, CAS-Nummern und Literaturstellen bezüglich des Nachweises von synthetischen Cannabinoiden, die bis zum August 2013 in Räuchermischungen identifiziert wurden	139
2.2	Ausgewählte Literaturdaten zur pharmakologischen Testung von bis zum August 2013 in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoiden	147
2.3	Betäubungsmittelrechtliche Maßnahmen zur Unterstellung synthetischer Cannabinoide in Deutschland	152
3	Auszug aus dem Poison Severity Score.....	153

4	Ergebnisse zur Identifizierung von neuartigen synthetischen Cannabinoiden.....	154
4.1	Analysenergebnisse des Produktmonitorings.....	154
4.2	NMR-Daten	168
4.2.1	AB-001.....	168
4.2.2	AM-1220 und dessen Azepan-Isomer	169
5	Validierungsergebnisse für LC/ESI-MS/MS-Methoden.....	171
5.1	Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben	171
5.2	Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen OF-Proben	180
5.3	Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen nOF-Proben	189
	LITERATURVERZEICHNIS	199
	PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	223
	DANKSAGUNG	229
	LEBENS LAUF	231

EINLEITUNG

1 Cannabinoide und das Endocannabinoidsystem

Cannabis ist nach wie vor die am häufigsten konsumierte illegale Droge weltweit. Eine Schätzung des „United Nations Office on Drugs and Crime“ geht gegenwärtig davon aus, dass im Jahr 2012 ca. 180,6 Millionen Menschen zwischen 15 und 64 Jahren mindestens einmal Cannabis konsumierten^[1]. Die vielfältigen psychotropen Wirkungen von Zubereitungen der Cannabispflanze (*Cannabis sativa*) beruhen auf deren Hauptinhaltsstoff Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC, siehe Abbildung 1), dessen Isolierung und Strukturaufklärung von Gaoni und Mechoulam im Jahr 1964 den Grundstein für die Cannabinoidforschung der letzten fünf Jahrzehnte legte^[2].

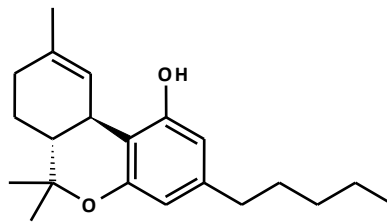


Abbildung 1 Strukturformel von Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC).

Die typischen THC-Wirkungen werden über das Endocannabinoidsystem vermittelt. Dieses umfasst die beiden Subtypen des Cannabinoidrezeptors, CB₁ und CB₂, endogene Liganden wie beispielsweise Anandamid oder 2-Arachidonoylglycerol (Endocannabinoide), sowie spezifische Proteine, die in Synthese, Transport und Abbau dieser endogenen Liganden involviert sind^[3, 4]. Die Cannabinoidrezeptoren gehören zur Superfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR) und sind hauptsächlich mit inhibitorischen G-Proteinen gekoppelt. Die Aktivierung des CB₁-Rezeptors verursacht eine Hemmung der Adenylatcyclase (AC) und bestimmter spannungsgesteuerter Ionenkanäle sowie die Aktivierung mitogen-aktivierter Proteinkinasen und die Stimulation einwärts gerichteter Kaliumkanäle^[3-5].

Der CB₁-Rezeptor ist vorwiegend an präsynaptischen Endigungen zentraler (Gehirn und Rückenmark) sowie peripherer Neuronen (nozizeptives System, Vegetativum oder Gastrointestinaltrakt) lokalisiert^[4]. Darüber hinaus werden CB₁-Rezeptoren ebenfalls in peripheren Geweben und Zellen exprimiert. Die höchste Dichte zentraler CB₁-Rezeptoren

befindet sich im Hippocampus, Cerebellum (Kleinhirn), Cortex und den Basalganglien. Durch diese sehr heterogene Verteilung über die verschiedenen Hirnareale lassen sich die vielfältigen zentralen Wirkungen von THC erklären. In der Peripherie sind CB₁-Rezeptoren u. a. im Herzgewebe, der Lunge, der Niere, dem Fettgewebe sowie auf Immunzellen zu finden^[3, 4, 6]. Die Aktivierung von CB₁-Rezeptoren hat im Allgemeinen zur Folge, dass die neuronale Erregung und Neurotransmission durch die Freisetzung sowohl exzitatorischer als auch inhibitorischer Neurotransmitter supprimiert werden (z. B. GABA, Glutamat, Acetylcholin oder Noradrenalin)^[3, 4, 7-9]. Im zentralen Nervensystem beeinflusst der CB₁-Rezeptor Wahrnehmung und Gedächtnis, Motorik, Schmerzverarbeitung sowie sensorische Funktionen. In der Peripherie werden dagegen u. a. antinozizeptive und kardiovaskuläre Effekte ausgelöst^[3, 10, 11].

Der CB₂-Rezeptor ist vorrangig in Zellen und Geweben des Immunsystems (Milz, Thymus, Mandeln, B- und T-Zellen, Makrophagen, Monozyten etc.) sowie in blutbildenden Zellen lokalisiert^[3, 4]. Vereinzelt sind CB₂-Rezeptoren zudem ebenfalls auf einzelnen Neuronen sowohl außerhalb als auch innerhalb des Gehirns gefunden worden^[7, 12, 13]. Im Gehirn sind CB₂-Rezeptoren ferner auf Gliazellen lokalisiert^[13]. Die Signaltransduktionsmechanismen nach Aktivierung des CB₂-Rezeptors sind, mit Ausnahme der Modulation von Ionenkanälen, mit denen des CB₁-Rezeptors identisch^[3, 13]. Die Aktivierung von CB₂-Rezeptoren führt hauptsächlich zur Modulation der Migration von Immunzellen sowie der Freisetzung von Cytokinen^[7]. Die daraus resultierenden Effekte umfassen u. a. eine entzündungshemmende Wirkung sowie die Reduktion akuter und neuropathischer Schmerzen^[13].

2 Synthetische Cannabinoide

2.1 Strukturelle Klassifizierung

Insbesondere die analgetischen, antiinflammatorischen und antiemetischen Effekte von THC sind pharmakotherapeutisch von besonderem Interesse^[14, 15]. Aus diesem Grund wurden aufbauend auf der Strukturaufklärung von THC bis heute zahlreiche strukturell höchst unterschiedliche Substanzen synthetisiert, die THC-ähnliche Effekte verursachen, aber nicht pflanzlichen Ursprungs sind. Solche, als synthetische Cannabinoide bzw. Cannabimimetika^[16] bezeichnete Substanzen, können wie folgt strukturell klassifiziert werden^[6, 7, 17]:

1. *Klassische Cannabinoide*: alle von THC abgeleitete Substanzen mit Dibenzopyran-Struktur (z. B. HU-210)
2. *Nichtklassische Cannabinoide*: bi- und tricyclische THC-Analoga ohne Pyranstruktur, beispielsweise die Cyclohexylphenole CP-47,497 und CP-55,940
3. *Indole*: Substanzen, die sich strukturell deutlich von THC unterscheiden und sich je nach Substitutionsmuster in weitere Klassen unterteilen lassen
 - a. Naphthoylindole, z. B. JWH-018, JWH-122, JWH-210, JWH-081, AM-1220, WIN 55,212-2
 - b. Phenylacetylindole, z. B. JWH-203, JWH-250, JWH-251, RCS-8
 - c. Benzoylindole, z. B. AM-694, AM-2233, RCS-4, WIN 48,098
 - d. sonstige Indole ohne aromatischen Substituenten, z. B. UR-144, AM-1248
4. *Pyrrole*: von den Indolen abgeleitete Substanzen mit Pyrrol-Grundstruktur, z. B. JWH-307, JWH-370
5. *Indene*: ebenfalls von den Indolen abgeleitete Strukturklasse, die anstelle der Indol- durch eine Inden-Grundstruktur gekennzeichnet sind, z. B. JWH-176
6. *Eicosanoide*: sogenannte Endocannabinoide, d. h. endogene Arachidonsäure-Derivate wie beispielsweise Anandamid und 2-Arachidonoylglycerol
7. *sonstige*: z. B. CRA-13, A-836,339

In Abbildung 2 sind Beispiele für strukturell unterschiedliche synthetische Cannabinoide dargestellt.

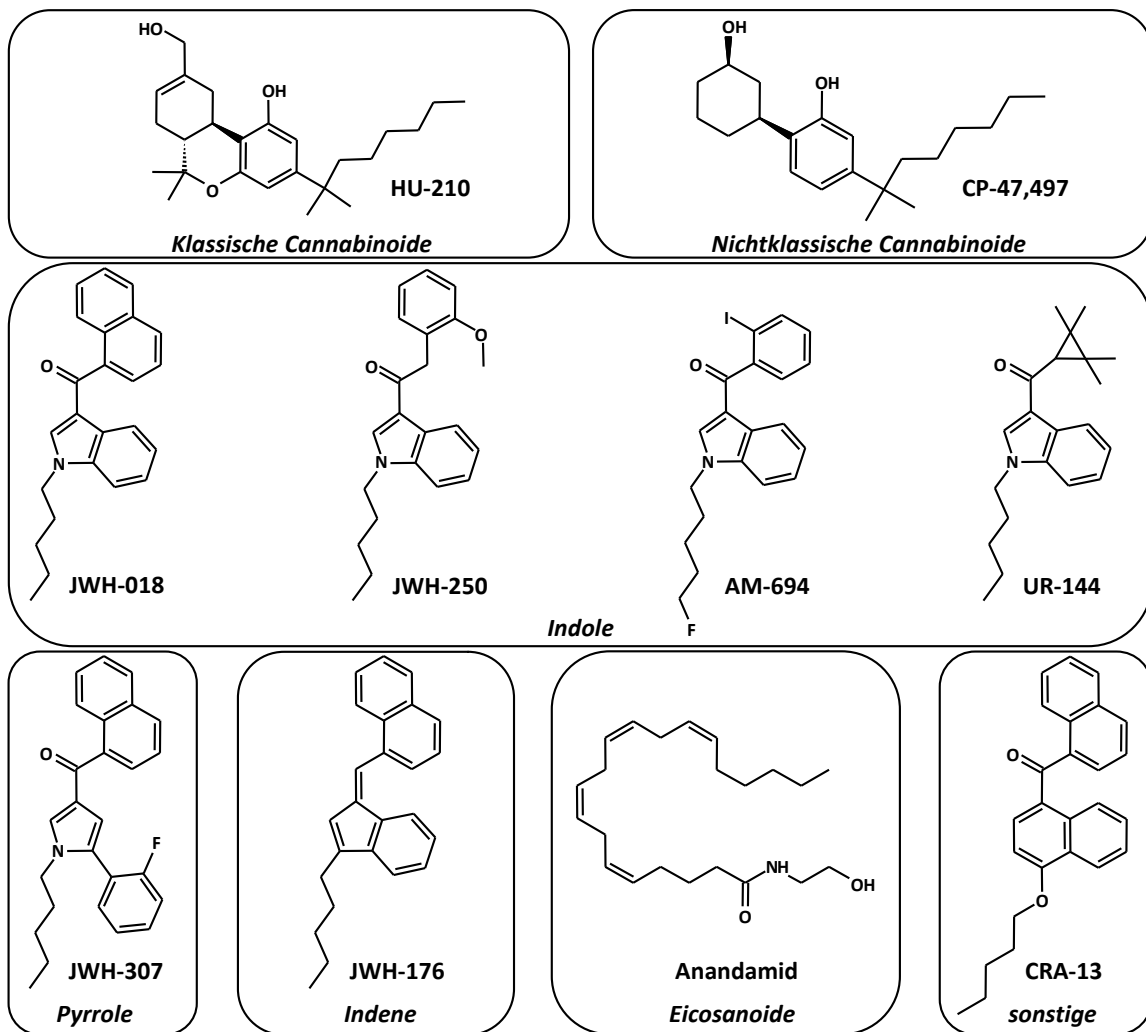


Abbildung 2 Beispiele für strukturell unterschiedliche synthetische Cannabinoide.

2.2 Charakteristika ausgewählter Strukturklassen

2.2.1 Substanzen vom Cyclohexylphenol-Typ

2.2.1.1 Entwicklungshintergründe

Auf Grund der umfangreichen analgetischen Wirkung, aber gleichzeitigen klinischen Limitierung von THC, widmete man sich in den frühen 1980er Jahren bei Pfizer® der pharmakologischen Testung von THC-Derivaten. Hierbei versprach man sich die Entwicklung von neuen, klinisch nutzbaren Analgetika, die nicht mehr die unerwünschten psychotropen Wirkungen des THC auslösen. Umfangreiche Studien zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR) führten hierbei zum Postulat einer im Vergleich zum THC-Molekül äußerst vereinfachten Struktur, die dennoch alle für eine analgetische Wirkung erforderlichen Pharmakophore beinhalten sollte. Durch Eliminierung des Pyranringes, Austausch der

Methylgruppe an C-9 gegen eine Hydroxylgruppe, Hydrierung der Doppelbindung im Cyclohexen- sowie Verlängerung der Seitenkette am phenolischen Ring auf sieben Kohlenstoffatome erhielt man hierbei CP-47,497^[16, 18, 19]. Im Rahmen der anschließenden pharmakologischen Evaluierung offenbarte die Substanz zunächst eine dem Morphin ähnliche analgetische Potenz, die sich durch den Opiod-Antagonisten Naloxon nicht aufheben ließ. Viel bedeutender war jedoch die Tatsache, dass die Substanz in verschiedenen Tiermodellen typische THC-Wirkungen auslöste und die des THC sogar um das 3- bis 28-fache übertraf^[16]. CP-47,497 gilt seitdem als Prototyp der Strukturklasse der sogenannten Cyclohexylphenole.

2.2.1.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

In den letzten fünf Jahrzehnten wurden zahlreiche Untersuchungen zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen (structure activity relationships, SAR) cannabimimetisch wirkender Substanzen durchgeführt. Während hierfür zunächst verschiedene *in vivo* oder *ex vivo* Tiermodelle verwendet wurden, ermöglichte die Identifizierung und Klonierung des CB₁-^[20, 21] und CB₂-Rezeptors^[22] schließlich die Entwicklung spezifischer *in vitro* Bioassays. Mit ihnen war es fortan möglich, gezielt SAR-Studien durchzuführen, um die Rezeptoraffinität und die intrinsische Aktivität cannabimimetischer Substanzen zu steuern. Eine Beschreibung der wichtigsten Bioassays zur pharmakologischen Charakterisierung von Cannabimimetika ist dem Anhang dieser Arbeit zu entnehmen (siehe Kapitel 1 im Anhang). Für eine detailliertere Übersicht sei an dieser Stelle auf die Übersichtsartikel von *Howlett et al.*^[6] und *Pertwee et al.*^[23] verwiesen.

Die Identifizierung der Cannabinoidrezeptoren legte ebenfalls den Grundstein für die Entdeckung, dass das Ausmaß der zentralen - und insbesondere der psychotropen Effekte - cannabimimetischer Substanzen mit deren Bindungsaffinität zum CB₁-Rezeptor korreliert^[24, 25]. Da die psychotrope Wirksamkeit cannabimimetisch wirkender Substanzen für die vorliegende Arbeit von zentraler Bedeutung ist, soll folgend für die Substanzen vom Cyclohexylphenol-Typ beschrieben werden, inwieweit strukturelle Änderungen die Affinität zum CB₁-Rezeptor beeinflussen.

Ausgehend vom Grundgerüst der Cyclohexylphenole existieren zwei bedeutende Substitutionspositionen, die die Affinität zum CB₁-Rezeptor erheblich beeinflussen (siehe Abbildung 3).

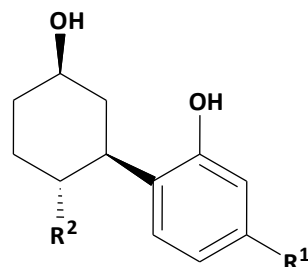


Abbildung 3 Substitutionspositionen (als R gekennzeichnet), die ausgehend vom Grundgerüst der Cyclohexylphenole bedeutenden Einfluss auf die resultierende CB₁-Affinität besitzen. Für eine detaillierte Erläuterung siehe untere Textpassage.

Zahlreichen Studien zufolge ist eine an C-1 dimethylierte Alkylkette an Position 5 des phenolischen Ringes essentiell für eine hohe CB₁-Affinität (R¹). Kettenlängen von Butyl bis Nonyl gewährleisten ein hohes Bindungsvermögen, wobei eine Octylkette das Optimum darstellt (z. B. CP-47,497-C₈ Homologes)^[24-26]. Eine weitere Steigerung der CB₁-Affinität wird erhalten, indem die Position 4 des Cyclohexanolsubstituenten zusätzlich durch eine kurze, terminal hydroxylierte Alkylkette modifiziert wird (R²). Die optimale Kettenlänge entspricht in diesem Fall einer Propylkette (z. B. CP-55,940)^[25].

2.2.2 Substanzen vom Indol-Typ

2.2.2.1 Entwicklungshintergründe

Nur wenige Jahre nach der Entwicklung der Cyclohexylphenole beschäftigte man sich bei Winthrop® mit der Entwicklung neuer nicht-steroidaler Antirheumatika. Hierbei verfolgte man das Ziel, durch Strukturmodifikation des starken Cyclooxygenase-Inhibitors Indometacin neue Wirkstoffe mit reduzierter gastrointestinaler Cytotoxizität zu entwickeln. Im Rahmen dieser Studien stellte man zufällig fest, dass die strukturell von Indometacin abgeleitete Substanz Pravadin (WIN 48,098) sowie einige ihrer Derivate an den CB₁-Rezeptor binden (Abbildung 4)^[27-30]. Auf Grund der Tatsache, dass diese Substanzen alle einen Alkylamino-Substituenten am Indolstickstoff aufwiesen, benannte man diese Substanzen folglich als Aminoalkylindole. Im Zuge weiterer Sturkturoptimierungen wurden anschließend

Aminoalkylindole entwickelt, die eine nochmals gesteigerte CB₁-Affinität aufweisen (z. B. AM-1220 oder WIN 55,212-2, Abbildung 4)^[31].

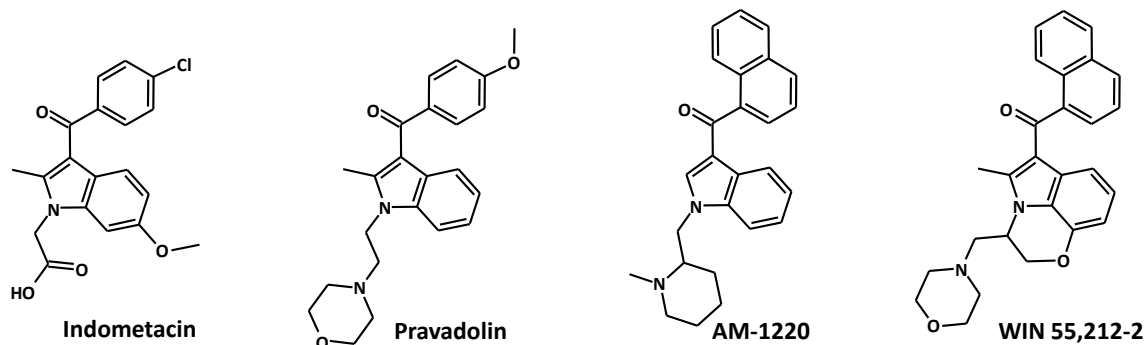


Abbildung 4 Strukturformeln des Cyclooxygenase-Inhibitors Indometacin sowie der davon strukturell abgeleiteten Cannabinoidrezeptor-Agonisten Pravadinol, AM-1220 und WIN 55,212-2.

In den folgenden Jahren führten die Arbeitsgruppen um *John W. Huffman*¹ sowie *Alexandros Makriyannis*² weiterführende SAR-Untersuchungen mit Aminoalkylindolen durch. Hierbei zeigte sich, dass der Alkylamino-Substituent nicht nur problemlos durch eine Alkylkette ersetzt werden kann, sondern diese bei optimaler Länge ebenfalls eine Steigerung der CB₁-Affinität bewirkt^[32-34]. Die strukturelle Optimierung des Alkylsubstituenten und weiterer Strukturmerkmale führte schließlich zur Synthese hunderter Alkylindole, von denen zahlreiche eine überaus hohe Affinität zum CB₁-Rezeptor aufweisen (z. B. JWH-018)^[35-39].

2.2.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Ausgehend vom Indol-Grundgerüst existieren bei synthetischen Cannabinoiden vom Indol-Typ drei Hauptpositionen, an denen ein Substituent einen signifikanten Einfluss auf die Affinität zum CB₁-Rezeptor hat (siehe Abbildung 5).

¹ Die Bezeichnung der „JWH“-Substanzen ergibt sich aus den Initialen John W. Huffmans.

² Die Bezeichnung der „AM“-Substanzen ergibt sich aus Alexandros Makriyannis' Initialen.

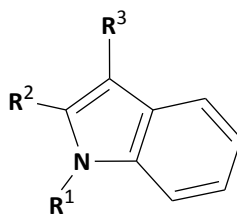


Abbildung 5 Substitutionspositionen (als R gekennzeichnet), die ausgehend vom Indol-Grundgerüst bedeutenden Einfluss auf die resultierende CB₁-Affinität besitzen. Für eine detaillierte Erläuterung siehe untere Textpassage.

Um eine hohe CB₁-Affinität zu gewährleisten, sollte der Stickstoff des Indols entweder mit einer zyklischen Alkylaminofunktion oder mit einer Alkylkette substituiert sein (R¹). Der Heterozyklus sollte hierbei durch eine kurze Alkylkette vom Indol-Stickstoff getrennt sein, wobei ein Abstand von zwei Kohlenstoffatomen zwischen beiden Stickstoffen optimal ist (z. B. Morpholin in JWH-200 oder 2-Methylpiperidin in AM-1220)^[27, 28, 30, 31]. Eine noch höhere Affinität zu CB₁ wird durch eine unverzweigte, gesättigte Alkylkette erzielt, wobei eine Pentylkette das Optimum darstellt (z. B. JWH-018). Verlängerung oder Verkürzung des Alkylsubstituenten senkt die CB₁-Affinität wieder, jedoch werden mit Butyl- bzw. Hexylketten auch noch hohe Affinitäten erzielt^[32, 34, 35]. Obwohl bisher nur wenige Beispiele verfügbar sind, gibt es Hinweise darauf, dass die CB₁-Affinität durch eine terminale Fluorierung der Pentylkette nochmals gesteigert wird. So besitzen AM-694 und MAM-2201 im Vergleich zu ihren nicht halogenierten Analoga AM-679 bzw. JWH-122 eine nochmals höhere CB₁-Rezeptoraffinität^[38, 40].

Verschiedene Arbeiten belegen, dass die Einführung eines Substituenten an Position C-2 des Indols eine Verringerung der CB₁-Affinität bewirkt (R²)^[28, 30, 31, 35, 37].

Der Substituent an Position C-3 des Indolkörpers hat einen enormen Einfluss auf die CB₁-Bindungsaffinität (R³). Sie wird entsprechend erhöht, wenn entweder ein Benzoyl-, Phenylacetyl- oder Naphthoylrest gewählt wird. Benzoyl- sowie Phenylacetylsubstituenten sollten dabei an Position C-2 wiederum Substituenten aufweisen. Der Benzoylsubstituent sollte iodiert vorliegen (z. B. AM-2233)^[36], während der Phenylacetylsubstituent idealerweise entweder methoxyliert (z. B. JWH-250) oder mit Chlor oder Brom halogeniert wird (z. B. JWH-203)^[37]. Die höchste CB₁-Affinität wird jedoch durch einen Naphthoylsubstituenten erzielt, der an C-4 modifiziert ist. Alkoxylierungen (Methyl und Ethyl, z. B. JWH-081)^[35, 41] sowie Halogenierungen liefern hohe CB₁-Affinitäten, wobei unerheblich ist, ob das Naphthoylsystem fluoriert, bromiert oder chloriert wird (z. B. JWH-398)^[17, 39]. Die bisher

höchsten Affinitäten zum CB₁-Rezeptor weisen schließlich Penty lindole auf, bei denen die Position C-4 des Naphthoylringes mit einem Methyl-, Ethyl-, oder Propylrest substituiert ist (z. B. JWH-210)^[41]. Die Einführung von voluminösen, aliphatischen Substituenten wie beispielsweise einem Adamantyl- oder Tetramethylcyclopropylrest an Position C-3 des Indolkörpers bewirkt demgegenüber eine zum Teil drastische Verringerung der CB₁-Affinität^[38, 42].

3 Synthetische Cannabinoide in Drogenzubereitungen

Wie bereits beschrieben, werden sowohl die klinisch interessanten als auch die psychotropen Effekte zentral wirksamer CB₁-Agonisten über denselben Rezeptor vermittelt, wodurch die therapeutische Anwendbarkeit dieser Substanzen erheblich limitiert ist. Aus diesem Grund werden zentral wirksame CB₁-Agonisten seither vorwiegend nur noch in der experimentellen Pharmakologie als Hilfsmittel bei der strukturellen und funktionalen Charakterisierung des CB₁-Rezeptors eingesetzt. Demgegenüber wurden CB₁-Agonisten erstmals im Jahr 2008 in sogenannten Räuchermischungen gefunden und nehmen seitdem in der forensischen Analytik eine besondere Rolle ein.

3.1 Räuchermischungen

Räuchermischungen wurden vermutlich zum ersten Mal im Jahr 2004 in vereinzelt europäischen Ländern wie Deutschland, Österreich oder der Schweiz über das Internet oder in „Headshops“³ verkauft^[43]. Hierbei handelt es sich um getrocknetes Pflanzenmaterial, das in Packungseinheiten á 0,5 bis 3,0 Gramm in kleinen, professionell gestalteten Tütchen verpackt vorliegt (Abbildung 6). Der Verkaufspreis liegt meist bei ca. 10 €/Gramm. Laut Deklaration enthalten die Produkte Teile exotischer Pflanzen, denen psychotrope Effekte nachgesagt werden, wie beispielsweise Indian Warrior (*Pedicularis densiflora*), Blue Lotus (*Nymphaea caerulea*), Lion's Tail (*Leonotis leonurus*) oder Baybean (*Canavalia maritima*)^[44]. Über etwaige weitere Inhaltsstoffe werden auf den Produkten keine Angaben gemacht. Lediglich der Hinweis, dass die Zubereitungen nicht zum Verzehr bestimmt sind („Not for human consumption.“), ist stets auf der Verpackung aufgeführt. Beworben werden

³ Geschäfte bzw. Läden, die im Allgemeinen Rauchutensilien wie z. B. Wasserpfeifen verkaufen.

Räuchermischungen im Allgemeinen als Raumerfrischer, Raumluftverbesserer, Autoparfüm oder Pflanzendünger. Das Verbrennen der Kräuter soll entspannende Effekte verursachen.



Abbildung 6 Beispiele für typische Räuchermischungen.

Die ersten (und heutzutage populärsten) Räuchermischungen trugen Namen wie „Spice Silver“, „Spice Gold“, „Yucatan Fire“ oder „Smoke“. Während zunächst vorwiegend experimentelle Drogenkonsumenten Interesse an diesen Produkten zeigten, rückten Räuchermischungen im Jahr 2008 schlagartig in den Fokus der breiten Öffentlichkeit als sie in Medienberichten als legale Alternative zu Cannabisprodukten beschrieben wurden. In zahlreichen Blogs und Internetforen tauschten sich Konsumenten verstärkt über die Wirkungen der Produkte aus und berichteten von cannabisähnlichen Effekten, die nach dem Rauchen des Pflanzenmaterials wahrgenommen wurden. In der Folgezeit wurden zunehmend Intoxikationsfälle infolge des Konsums dieser Produkte berichtet, wobei jedoch zunächst völlig unklar blieb, was die pharmakologischen Effekte auslöste^[45]. Zum Ende des Jahres 2008 gelang schließlich gleich drei verschiedenen Institutionen die Beantwortung dieser Frage. Mitarbeiter der THC Pharm GmbH waren in der Lage das Alkylindol und synthetische Cannabinoid JWH-018 in Räuchermischungen des Typs „Spice Gold“, „Spice Arctic Synergy“ sowie „Yucatan Fire“ nachzuweisen^[46]. Nur wenige Tage später identifizierten *Auwärter et al.* mit CP-47,497 sowie dessen C₈-Homologem zwei synthetische Cannabinoide aus der Gruppe der Cyclohexylphenole in verschiedenen Produkten (z. B. „Spice Diamond“

oder „Sence“)^[47]. Letztere Substanz sowie JWH-018 wurden zur gleichen Zeit ebenfalls auf dem japanischen Markt vorgefunden^[48, 49]. Untersuchungen zeigten ferner, dass es sich bei den pflanzlichen Bestandteilen der Räuchermischungen - entgegen der Produktdeklaration - vorwiegend um Damiana (*Turnera diffusa*), Süßholz (*Glycyrrhiza glabra*) oder verschiedene Pflanzenarten aus der Gattung der Minzen (z. B. *Melissa*, *Mentha*, *Thymus sp.*) und folglich nicht um psychotrop wirkende Kräuter handelt^[50, 51]. Somit wurde deutlich, dass die pflanzliche Komponente der Räuchermischungen lediglich als Trägermaterial dient, auf das synthetische Cannabinoide durch Aufsprühen einer Wirkstofflösung oder durch Vermischen des Materials mit einem organischen Lösungsmittel, in dem die Substanzen gelöst sind, aufgebracht werden.

Der Gesetzgeber reagierte auf diese Ereignisse, indem er die Substanzen JWH-018, CP-47,497 sowie deren C₆-, C₈- und C₉-Homologe im Januar 2009 per Eilverordnung dem Betäubungsmittelgesetz (BtMG) unterstellte^[52]. Doch bereits wenige Wochen später konnte mit JWH-073, dem Butylhomologen von JWH-018, ein neues synthetisches Cannabinoid aus der Klasse der Alkylindole in einer Räuchermischung identifiziert werden^[53]. Gegen Ende des Jahres 2009 gelang Mitarbeitern der Landeskriminalämter Bayern und Schleswig-Holstein schließlich die Identifizierung von JWH-250^[54]. Dies veranlasste den Gesetzgeber erneut eine Änderung der Anlage II des BtMG vorzunehmen, indem dieser im Januar 2010 nun die Substanzen JWH-250, JWH-073 sowie deren Hexylhomologes JWH-019 hinzugefügt wurden.

3.2 Konsummotivation

Verschiedene Umfragen haben ergeben, dass Räuchermischungen in aller Regel von erfahrenen Usern anderer Drogen, vorwiegend Cannabis, konsumiert werden. Die Gründe für den Konsum sind hierbei vielfältig. Häufig besteht Interesse an ihrer Wirkung, vor allem im Vergleich zu Cannabis. Darüber hinaus werden ebenfalls der - im Vergleich zu Cannabis - erheblich einfachere Erwerb von Räuchermischungen sowie deren breitere Verfügbarkeit geschätzt. Zudem sehen Drogenkonsumenten im Konsum von Räuchermischungen die Möglichkeit, regelmäßige Drogenscreenings zu unterwandern, da synthetische Cannabinoide von diesen nicht erfasst werden. Vereinzelt gaben zudem an, die Produkte auf Grund ihrer erhöhten Sicherheit und Legalität sowie stärkeren Wirksamkeit gegenüber Cannabisprodukten zu bevorzugen. Zahlreichen Umfragen zufolge zieht die Mehrheit der

Drogenkonsumenten den Konsum von Cannabisprodukten jenem von synthetischen Cannabinoiden allerdings vor^[55-62].

4 Ziele der Arbeit

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, im Laufe der praktischen Arbeiten neu auf dem Drogenmarkt angebotene Räuchermischungen auf die Präsenz von synthetischen Cannabinoiden zu untersuchen. Hierfür sollten regelmäßig neue Produkte erworben und qualitativ mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS) analysiert werden. In Fällen, in denen die erhaltenen Massenspektren auf neue, noch nicht bekannte synthetische Cannabinoide hinwiesen, sollten die Substanzen isoliert und strukturell charakterisiert werden. Dies sollte durch die Kombination verschiedener massenspektrometrischer Methoden sowie Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) erfolgen.

Ein weiteres Ziel der Arbeit umfasste die Entwicklung von auf Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC/MS/MS) basierenden Methoden zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in den forensisch relevanten Matrices Blutserum und Oral Fluid. Hiermit sollte die Notwendigkeit erfüllt werden, diese Substanzen im Rahmen der täglichen forensisch-toxikologischen Fallarbeit hochempfindlich nachweisen zu können. Hierbei sollten Erkenntnisse zur allgemeinen Nachweisbarkeit dieser Substanzen in Serum- und Oral Fluid-Proben erhalten werden. Durch Korrelation zwischen Serumkonzentrationen und der Schwere von Vergiftungssymptomen, die bei klinischen Notfällen nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden auftreten, sollte ferner eine Beurteilung des Gefahrenpotentials dieser Substanzklasse unternommen werden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

1 Identifizierung neuartiger synthetischer Cannabinoide

1.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Im Zeitraum der praktischen Arbeiten (Januar 2010 - Dezember 2012) wurden insgesamt fast 400 verschiedene Räuchermischungen qualitativ auf deren Inhaltsstoffe untersucht (siehe Tabelle II im Anhang). Hierbei war die Identifizierung der enthaltenen Cannabimimetika in den meisten Fällen auf Grund bereits zuvor erworbener Referenzsubstanzen alleinig mittels GC/MS-Analyse durch Abgleich der erhaltenen EI-MS-Spektren und Retentionsindizes möglich^[63-66]. In seltenen Fällen mussten die enthaltenen, noch unbekannten Substanzen jedoch isoliert und strukturell charakterisiert werden. Dies soll im Folgenden an zwei Fallbeispielen genauer beschrieben werden.

1.2 Fallbeispiel 1

1.2.1 Strukturelle Charakterisierung mittels MS

Im August 2010 wurden 19 verschiedene Räuchermischungen bei einem Internetshop erworben. Während in 16 dieser Produkte das CB₁-hochaffine synthetische Cannabinoid AM-694 nachgewiesen werden konnte, wurde bei den restlichen 3 Produkten im Totalionenchromatogramm (TIC) ein deutliches Signal erhalten, dessen zugehöriges EI-MS-Spektrum zunächst keinem bis dato bekannten synthetischen Cannabinoid zugeordnet werden konnte (Substanz **1**). Allerdings wies das Fragmentierungsmuster große Ähnlichkeit mit dem im Jahr 2009 erstmals in Räuchermischungen identifizierten Phenylacetylindol JWH-250 auf (Abbildung 7).

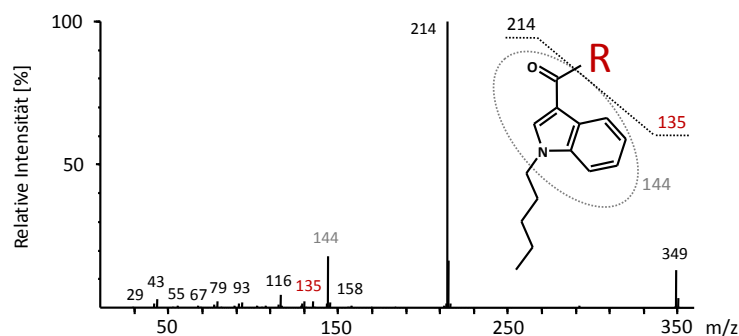


Abbildung 7 GC/EI-MS-Spektrum und postulierte Partialstruktur von Substanz **1**. Der als „R“ dargestellte Molekülteil stellt das nach Auswertung des Spektrums noch unbekannte Strukturelement dar.

Das EI-MS-Spektrum von Substanz **1** wies die charakteristischen Fragmente m/z (% relative Intensität) 349 (11), 214 (100), 144 (16), 116 (10) sowie 135 (5) auf. In Analogie zum EI-MS-Spektrum von JWH-250 (Abbildung 8) wiesen hierbei vor allem die Ionen mit m/z 214 (Pentylindoloyl-Gruppe), 144 (Indoloyl-Gruppe) und 116 (Indol-Gruppe) auf eine Pentylindoloyl-Struktur hin.

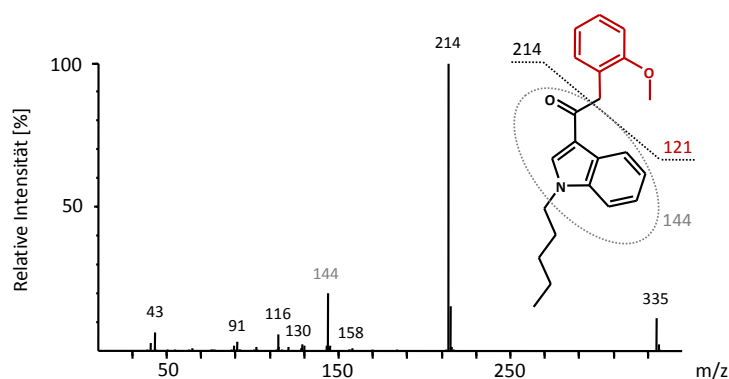


Abbildung 8 GC/EI-MS-Spektrum und Struktur von JWH-250.

Die Massendifferenz von + 14 Da zwischen den Molekül-Ionen m/z 335 (JWH-250) und 349 (**1**) ließ auf ein methyliertes Derivat des JWH-250 schließen, wobei die Strukturmodifikation im vom Pentylindoloyl-Grundkörper entfernten Molekülteil lokalisiert sein musste. Ein solches Derivat konnte auf Grund der im Molekül vorhandenen Keto-Enol-Tautomerie durch Methylierung der α -Position des JWH-250 dargestellt werden und war zu diesem Zeitpunkt bereits in der Literatur beschrieben worden^[54]. Tatsächlich wies das erhaltene EI-MS-Spektrum eine sehr hohe Übereinstimmung mit einem in α -Position der Ketofunktion methylierten Derivat von JWH-250 auf (Abbildung 9).

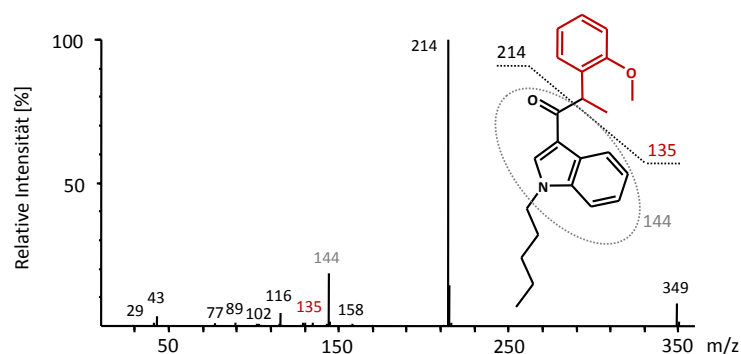


Abbildung 9 GC/EI-MS-Spektrum und Struktur eines α -methylierten Derivates von JWH-250.

Beide Substanzen wiesen jedoch unterschiedliche Retentionsindizes sowie leichte Intensitätsunterschiede in deren Fragment m/z 135 auf. Darüber hinaus ließ sich **1** in Gegenwart von Phenyltrimethylammoniumhydroxid-Lsg. (0,1 M in Methanol) *in situ* nicht methylieren, wodurch eine Keto-Enol-Tautomerie und somit die Präsenz einer Phenylacetylfunction ausgeschlossen werden musste.

Um die Struktur von **1** aufklären zu können, wurde die Substanz zunächst isoliert und mittels Dünnschichtchromatographie (DC) aufgereinigt, wobei ca. 8 mg einer orange-braunen, kristallinen Substanz (**1**) erhalten wurden.

Das im positiven Ionenmodus aufgenommene hochaufgelöste LC/ESI-MS/MS-Spektrum von Substanz **1** zeigte ein protoniertes Molekül-Ion $[M + H]^+$ mit m/z 350,2480 (Massengenauigkeit: 0,50 ppm), woraus sich eine Molekülformel von $C_{24}H_{31}NO$ ableiten ließ. Die hochaufgelöste Masse des charakteristischen Fragment-Ions m/z 135,1166, welches durch Abspaltung des die Pentyldoloyl-Gruppe darstellenden Neutralteilchens $C_{14}H_{17}NO$ (m/z 215,1314) entsteht, führte zu einer postulierten Zusammensetzung von $C_{10}H_{15}$ (Massengenauigkeit: 1,40 ppm) (Abbildung 10).

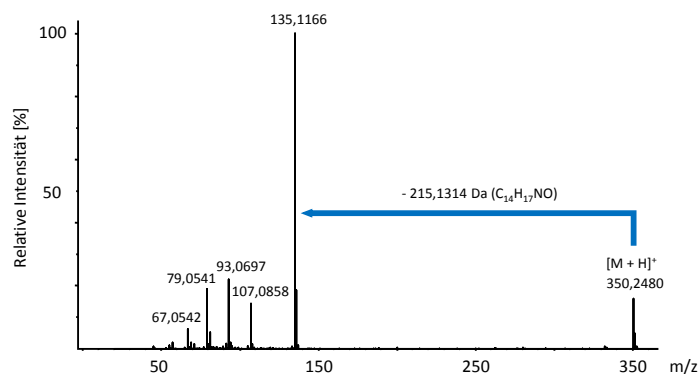


Abbildung 10 Hochauflöstes LC/ESI-MS/MS-Spektrum von Substanz **1**.

Somit konnte die anfängliche Hypothese einer Phenylacetyl-Gruppe auf Grund der Abwesenheit eines Sauerstoffatoms auch mittels hochauflösender Massenspektrometrie widerlegt werden. Stattdessen musste es sich bei dem noch unbekannten Strukturelement um einen zyklischen aliphatischen oder aromatischen Substituenten handeln.

1.2.2 Strukturelle Charakterisierung mittels NMR

Mittels verschiedener ein- und zweidimensionaler NMR-Experimente konnte die Struktur von Substanz **1** schließlich als 3-(1-Adamantoyl)-1-pentylindol bzw. AB-001 identifiziert werden. Hierbei handelt es sich um ein Derivat des JWH-018, das anstelle des Naphthyl- einen Adamantyl-Substituenten aufweist (Abbildung 11). Die ^1H - ^1H -Konnektivitäten konnten durch die Aufnahme von selektiven ^1D -TOCSY-Spektren ermittelt werden, was zur Identifizierung von drei individuellen Spinsystemen führte. Die Präsenz der Pentylkette sowie des Indolsubstituenten konnte durch Auswertung von $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC- bzw. $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HMBC-Spektren bestätigt werden. Die Adamantylstruktur ist hochsymmetrisch, wobei die entsprechenden Signale für die 2'', 3'' und 4'' Protonen nicht aufgelöst sind und als breite Singulets oder Multipletts erscheinen. Das ^1H - sowie ^{13}C -NMR-Spektrum von AB-001 ist in Abbildung 11 dargestellt. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten sind in der Tabelle VI im Anhang zusammengefasst.

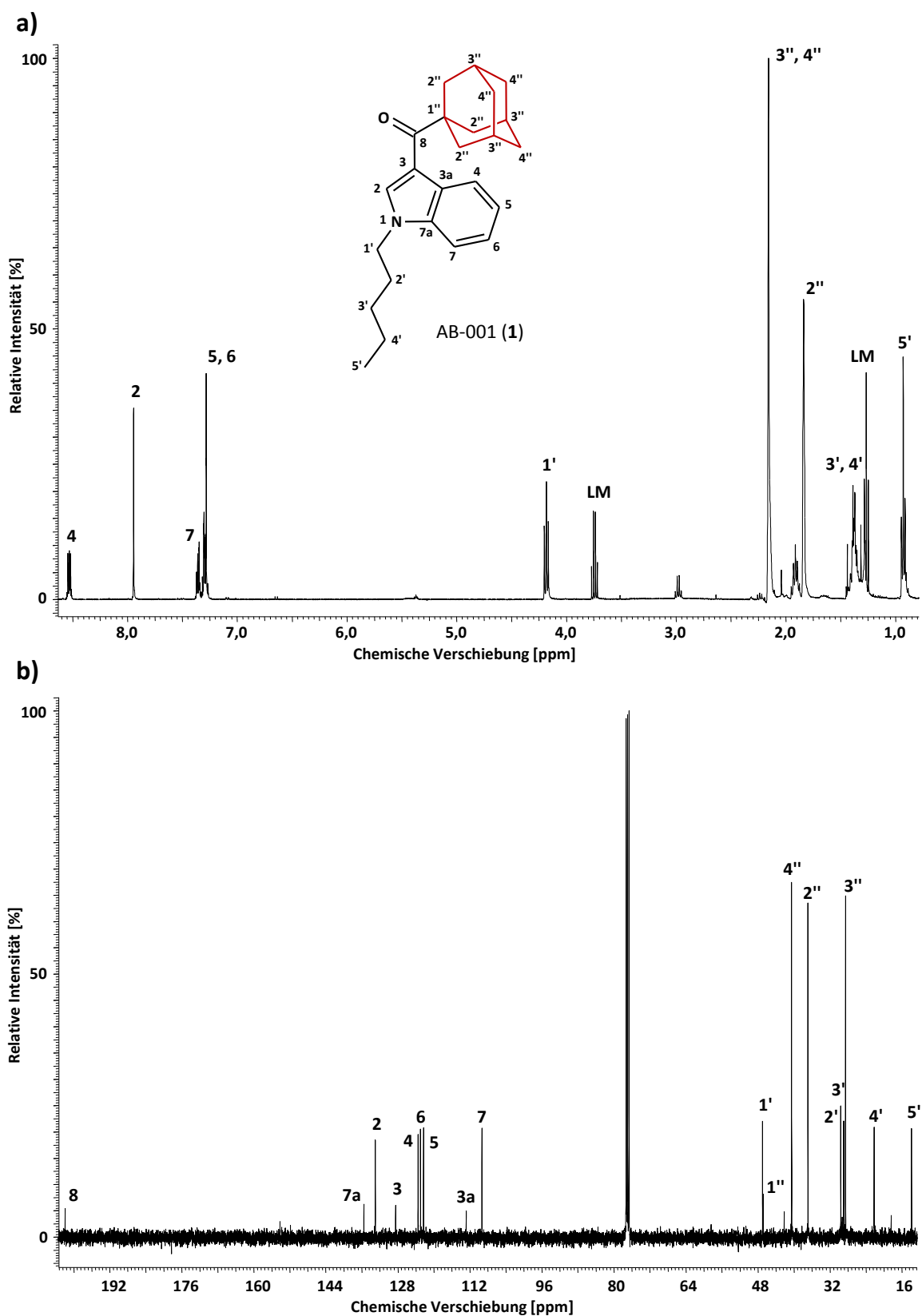


Abbildung 11 ^1H - (a, aufgenommen bei 400 MHz) sowie ^{13}C -NMR-Spektrum (b, aufgenommen bei 100,6 MHz) von AB-001 (1) in CDCl_3 bei Raumtemperatur. Die einzelnen Signale sind der aufgeführten Strukturformel entsprechend nummeriert. LM: Lösungsmittelreste (Ethanol, $\delta = 1,27$ bis $1,32$ ppm und $\delta = 3,74$ ppm). Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten sind in Tabelle VI im Anhang aufgeführt.

1.2.3 Beurteilung von AB-001 im forensisch-toxikologischen Kontext

Zum Zeitpunkt seiner Erstidentifizierung war AB-001 das erste Alkylindol, dessen Substituent am Carbonylsauerstoff aliphatischen Charakters war. Ferner existierten zu jenem Zeitpunkt keine pharmakologischen Angaben hinsichtlich seiner Bindungsaffinität zu den CB-Rezeptoren. Dies macht AB-001 zu einem typischen Vertreter jener Generation von Cannabimimetika, die nicht mehr aus der wissenschaftlichen Literatur stammten, sondern durch völlig neue Substitutionsmuster charakterisiert waren. Auf Grund der häufigen Identifizierung in Produkten auf dem japanischen Markt und dem Fehlen pharmakologischer Daten ermittelten *Uchiyama et al.* deshalb die CB₁-Bindungsaffinitäten von AB-001 im Rahmen eines *in vitro* Radioliganden-Assays. Sie erhielten für AB-001 eine in etwa 5-fach geringere CB₁-Bindungsaffinität im Vergleich zur potenten Substanz JWH-018, wodurch zunächst auf eine moderate, THC-ähnliche Wirkstärke von AB-001 geschlossen werden konnte^[67]. *Banister et al.* konnten in verschiedenen *in vitro* Studien zeigen, dass AB-001 eine vollagonistische und somit erhöhte Funktionalität an CB₁-Rezeptoren gegenüber THC aufweist. In von ihnen später an Wistar-Ratten durchgeführten *in vivo* Studien zeigte AB-001 im Gegensatz zu THC und JWH-018 jedoch nur eine stark reduzierte cannabimimetische Aktivität, so dass eine psychotrope Wirkung von AB-001 bei normaler Dosierung zumindest bezweifelt werden muss^[68].

AB-001 wurde in der Folgezeit seiner Erstidentifizierung zunächst nur selten in Räuchermischungen aufgefunden. Trotzdem unterstellte der Gesetzgeber die Substanz am 26.07.2012 im Rahmen der 26. Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften dem Betäubungsmittelgesetz (BtMÄndV)^[69]. Obwohl seitdem als BtM geltend und offenbar nur schwach cannabimimetisch wirksam, konnte AB-001 gegen Ende des Jahres 2012 sowohl vereinzelt in neuen Produkten als auch erstmals in Blutproben nachgewiesen werden (siehe Kapitel 2.6.1.1 in diesem Abschnitt).

1.3 Fallbeispiel 2

1.3.1 Strukturelle Charakterisierung mittels MS

Zu Beginn des Jahres 2011 wurde ein sogenanntes „Research Chemical“, das laut Deklaration das hochpotente Cannabimimetikum AM-1220 beinhalten sollte, über eine Internethandelsplattform erworben. Von dem erhaltenen Produkt, das in kristalliner Form

vorgefunden wurde, wurden zunächst 1 mg Substanz in 1 mL Ethanol gelöst und die erhaltene Lösung anschließend mittels GC/MS im Full-Scan-Modus analysiert. Im erhaltenen TIC war bei 16,94 min ein symmetrischer Peak zu erkennen, dessen zugehöriges EI-MS-Spektrum vier intensive Fragment-Ionen mit m/z (% relative Intensität) 98 (100), 70 (10), 127 (7) und 155 (4) aufwies. Die für Naphthoylindole typischen Fragmente mit m/z 127 (Naphthyl-Gruppe) und m/z 155 (Naphthoyl-Gruppe) deuteten dabei auf das Vorhandensein eines unsubstituierten Naphthylrestes hin. Die Vermutung, dass es sich bei der untersuchten Substanz um AM-1220 handelt, wurde zusätzlich durch die Ionensignale m/z 98 (mögliche N-Methylpiperidin-Gruppe) sowie m/z 382 (Molekül-Ion) unterstützt (Abbildung 12).

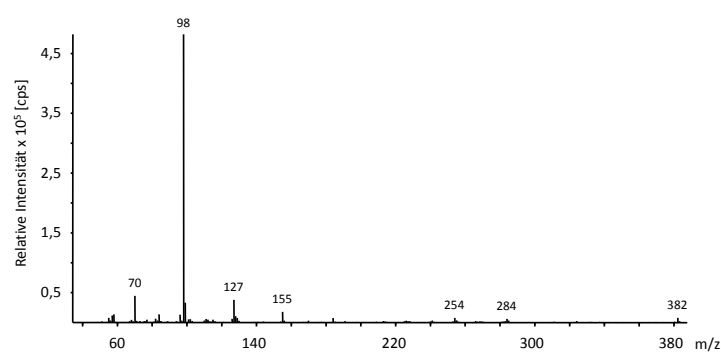


Abbildung 12 GC/EI-MS-Spektrum, das nach Analyse des „Research Chemicals“ erhalten wurde.

Da das zugehörige EI-MS-Spektrum keine signifikanten Änderungen über die gesamte Peakbreite aufwies und ebenfalls keine weiteren relevanten Peaks im TIC zu erkennen waren, deuteten diese Ergebnisse zudem auf eine hohe Reinheit der Substanz hin. Nach Analyse der Feststofflösung mittels DC waren unter UV-Licht jedoch überraschenderweise zwei deutliche Spots mit R_f -Werten von 0,11 und 0,31 zu erkennen. Aus diesem Grunde ergab sich die Hypothese, dass in dem Produkt zwei isomere Substanzen mit sehr ähnlichen physikochemischen Eigenschaften nebeneinander vorlagen.

Um diese Hypothese zu beweisen, wurden beide Substanzen zunächst mittels DC getrennt und anschließend isoliert. Hierbei wurden die braunen, öligen Substanzen **2** (R_f 0,11, ca. 17 mg) und **3** (R_f 0,31, ca. 8 mg) erhalten.

Nach GC/MS-Analyse von Substanz **2** war im TIC - analog zum Substanzgemisch - ein symmetrischer Peak bei 16,94 min zu erkennen. Interessanterweise wies das zugehörige EI-MS-Spektrum, bis auf kleine Unterschiede in den Intensitäten der Hauptfragment-Ionen, eine

sehr große Ähnlichkeit mit jenem des Gemisches beider Substanzen auf. Das EI-MS-Spektrum von Substanz **2** zeigte sechs Haupt-Ionensignale mit m/z (% relative Intensität) 98 (100), 70 (19), 127 (13), 155 (6), 254 (4) und 284 (4). Wie bereits beschrieben, lieferten die Fragmente mit m/z 127 (Naphthyl-Gruppe) und m/z 155 (Naphthoyl-Gruppe) wieder eindeutige Hinweise auf das Strukturelement eines unsubstituierten Naphthylrestes. Überraschenderweise fehlte jedoch das die Indoloyl-Gruppe darstellende Fragment-Ion m/z 144, das typischerweise prominent in Massenspektren von Alkylindolen, deren Indol-Funktion lediglich am Stickstoff mit einer Alkylkette substituiert ist, auftritt. Während die EI-MS-Spektren von Vertretern dieser Grundstruktur (z. B. JWH-018, JWH-073 und JWH-210) typischerweise intensive Molekül-Ionen aufweisen^[40, 47, 48, 53, 54, 63-66, 70-78], war das Molekül-Ion von Substanz **2** jedoch lediglich mit äußerst geringer Intensität präsent. Das prominente Ion m/z 98 deutete – analog zum intensiven Fragment m/z 100 im EI-MS-Spektrum von JWH-200^[63, 64, 73] – stattdessen auf einen heterozyklischen Substituenten hin, dessen Verknüpfung zum Indolstickstoff über eine kurze Alkylkette realisiert ist (Abbildung 13).

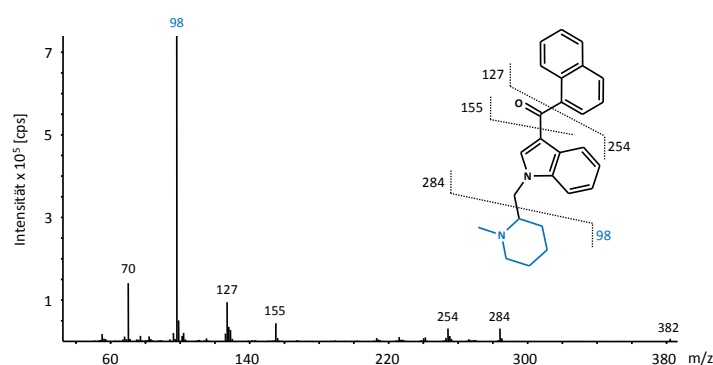


Abbildung 13 GC/EI-MS-Spektrum und postulierte Struktur von Substanz **2**.

Die Untersuchung von Substanz **2** mittels HR-MS im positiven Ionenmodus lieferte ein protoniertes Molekül-Ion $[M + H]^+$ mit m/z 383,2106 (Massengenauigkeit: 1,21 ppm), woraus sich eine abgeleitete Molekülformel von $C_{26}H_{26}N_2O$ ergab. Die hochaufgelösten Massen der intensiven Fragment-Ionen lieferten weitere strukturelle Informationen zu Substanz **2** (Abbildung 14). Für die Fragmente mit m/z 155,0486 und 127,0541 ergaben sich die elementaren Zusammensetzungen $C_{11}H_7O$ (Naphthoyl-Gruppe, Massengenauigkeit: 3,51 ppm) und $C_{10}H_7$ (Naphthyl-Gruppe, Massengenauigkeit: 1,00 ppm), wodurch die Präsenz einer Naphthoylgruppe als sehr wahrscheinlich galt. Die Masse des Ions m/z 98,0965 wies auf die Zusammensetzung $C_6H_{12}N$ (Massengenauigkeit: - 0,76 ppm) hin, woraus sich das

Strukturelement einer N-Methylpiperidin-Gruppe ableiten ließ. Anhand des Neutralmassenverlustes von 271,0986 Da, der im Zuge der Abspaltung des gesamten Indol-Stickstoff-Substituenten auftrat (m/z 112,1120, $C_7H_{14}N$, Massengenauigkeit: 0,68 ppm), konnte zudem eine weitere Substituierung der postulierten Naphthylindoloyl-Struktur ($C_{19}H_{13}NO$) ausgeschlossen werden. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse, die mittels beider massenspektrometrischen Methoden erhalten wurden, handelte es sich bei Substanz **2** somit mit hoher Wahrscheinlichkeit tatsächlich um AM-1220.

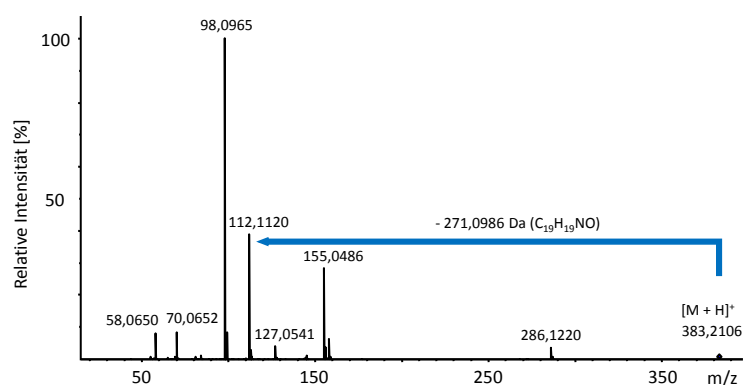


Abbildung 14 Hochauflöstes LC/ESI-MS/MS-Spektrum von Substanz **2**.

Wie erwartet konnte nach GC/MS-Analyse im TIC von Substanz **3** ebenfalls ein intensiver Peak bei 16,94 min beobachtet werden. Überraschenderweise wies das zugehörige EI-MS-Spektrum jedoch - im Gegensatz zu jenen von Substanz **2** und des Gemisches aus **2** und **3** - zahlreiche, zum Teil sehr intensive Fragmente auf: m/z (% relative Intensität) 127 (100), 84 (86), 57 (86), 382 (73), 98 (54), 155 (53), 184 (44), 170 (34), 70 (23), 112 (23), 324 (17), 227 (12), 241 (12), 285 (12), 254 (10) und 144 (10) (Abbildung 15). In Analogie zum EI-MS-Spektrum von **2**, lieferten die Fragmente mit m/z 127 und 155 klare Hinweise auf das Strukturelement einer Naphthoyl-Gruppe. Darüber hinaus wies das diesmal präsente Fragment-Ion mit m/z 144 auf eine Indoloyl-Gruppe hin.

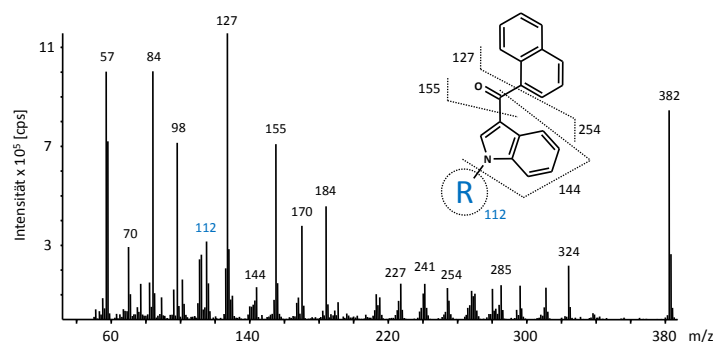


Abbildung 15 GC/EI-MS-Spektrum und postulierte Partialstruktur von Substanz **3**. Der als „R“ dargestellte Molekülteil stellt das nach Auswertung des Spektrums noch unbekannte Strukturelement dar.

Wie bereits bei **2** zeigte die Analytik mittels HR-MS ein protoniertes Molekül-Ion $[M + H]^+$ mit m/z 383,2113 (Massengenauigkeit: 1,43 ppm), wodurch die Eingangshypothese, dass es sich bei **2** und **3** um ein Gemisch zweier Isomere mit sehr ähnlichen physiko-chemischen Eigenschaften handelt, bestätigt wurde. Das hochaufgelöste Fragmentspektrum von **3** zeigte vor allem das prominente Ion m/z 112,1118 ($C_7H_{14}N$, Massengenauigkeit: 2,48 ppm), aus dem weitere Strukturinformationen erhalten werden konnten (Abbildung 16).

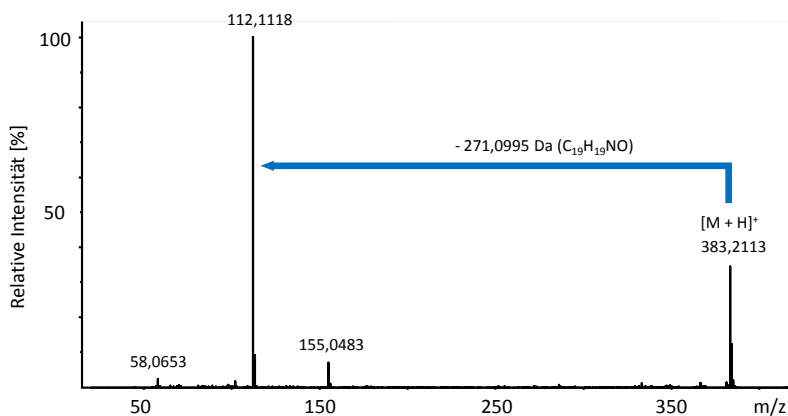


Abbildung 16 Hochaufgelöstes LC/ESI-MS/MS-Spektrum von Substanz **3**.

Dieses Ion ließ sich, wie bereits zuvor bei Substanz **2**, als Folge einer Abspaltung der Naphthylindoloyl-Struktur als Neutralteilchen (271,0995 Da, $C_{19}H_{13}NO$) formulieren. Somit wies die massenspektrometrische Charakterisierung von **2** und **3** auf dieses gemeinsame Strukturelement hin. Da die GC/EI-MS- und LC/ESI-MS/MS-Spektren zudem auf das Vorliegen einer Naphthylindoloyl-Struktur hindeuteten, musste davon ausgegangen werden, dass der Strukturunterschied beider Substanzen im heterozyklischen Substituenten lokalisiert ist.

1.3.2 Strukturelle Charakterisierung mittels NMR

Die Auswertung der ein- und zweidimensionalen NMR-Experimente bestätigte, dass es sich bei Substanz **2** tatsächlich um AM-1220 handelte. Substanz **3** stellte sich als dessen Konstitutionsisomer 1-(N-Methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indol heraus, das anstelle des methylierten Piperidin- einen methylierten Azepansubstituenten aufweist. Selektive ^1D -TOCSY-Experimente wiesen erneut auf drei individuelle Spinsysteme hin. Die 3-Naphthoylindolstruktur beider Substanzen konnte anhand der charakteristischen Signale im Bereich der aromatischen sowie der Carbonyl-Region innerhalb der ^1H -Spektren bestätigt werden. Die Substituenten am Indolstickstoff stellten jeweils ein Spinsystem, bestehend aus sechs Kohlenstoffatomen mit einer Methin-, fünf Methylen- sowie einer Methyl-Gruppe, dar.

Im ^1H -Spektrum von AM-1220 sind bei 4,55 bzw. 3,87 ppm zwei Dubletts eines Dubletts zu erkennen, die den jeweils diastereotopen Protonen H-1'' zugeordnet werden können. Das vicinal koppelnde Proton H-2'' hat auf Grund seiner direkten Nähe zu den beiden Stickstoffatomen eine chemischen Verschiebung von 2,4 ppm, wodurch die Verknüpfung zwischen dem Indol- und dem 1-Methylpiperidin-2-yl-Substituenten über eine Methylgruppe bewiesen wird.

Das Konstitutionsisomer **3** weist eine an den Indolstickstoff gebundene Methingruppe auf, die zwei Methylengruppen in Nachbarschaft besitzt. Auf Grund der höheren chemischen Verschiebung ist eine dieser Methylengruppen an den Stickstoff des tertiären Amins gebunden, wodurch die Azepan-3-yl-Struktur bewiesen wird.

Die ^1H - sowie ^{13}C -NMR-Spektren beider Substanzen sind in Abbildung 17 bzw. Abbildung 18 aufgeführt. Die ^1H - sowie ^{13}C -NMR-Daten sind in Tabelle VII im Anhang zusammengefasst.

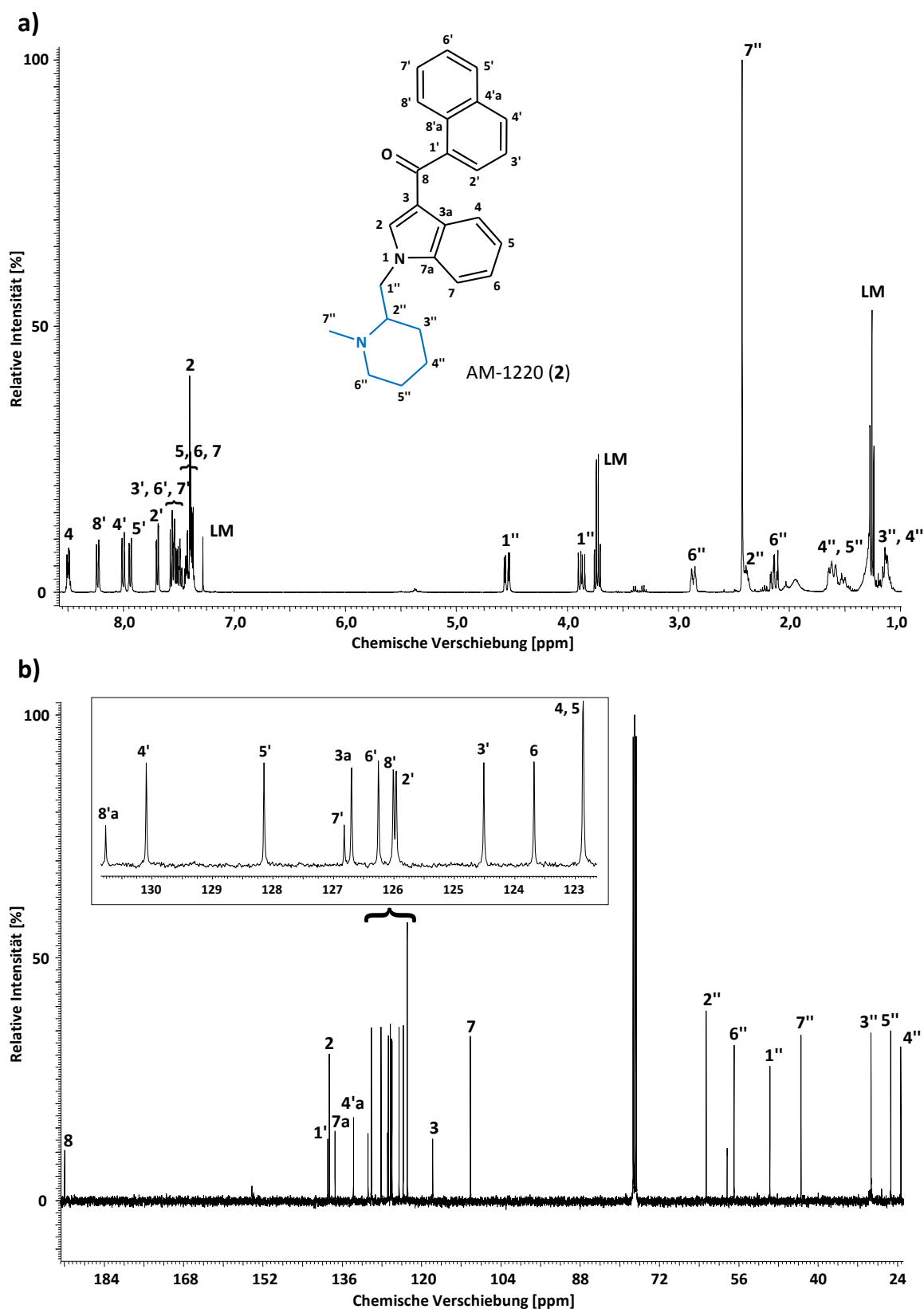


Abbildung 17 ^1H - (a, aufgenommen bei 400 MHz) sowie ^{13}C -NMR-Spektrum (b, aufgenommen bei 100,6 MHz) von AM-1220 (2) in CDCl_3 bei Raumtemperatur. Die einzelnen Signale sind der aufgeführten Strukturformel entsprechend nummeriert. LM: Lösungsmittelreste (Ethanol, $\delta = 1,27$ bis $1,32$ ppm und $\delta = 3,74$ ppm; Chloroform, $\delta = 7,28$ ppm). Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten sind in Tabelle VII im Anhang aufgeführt.

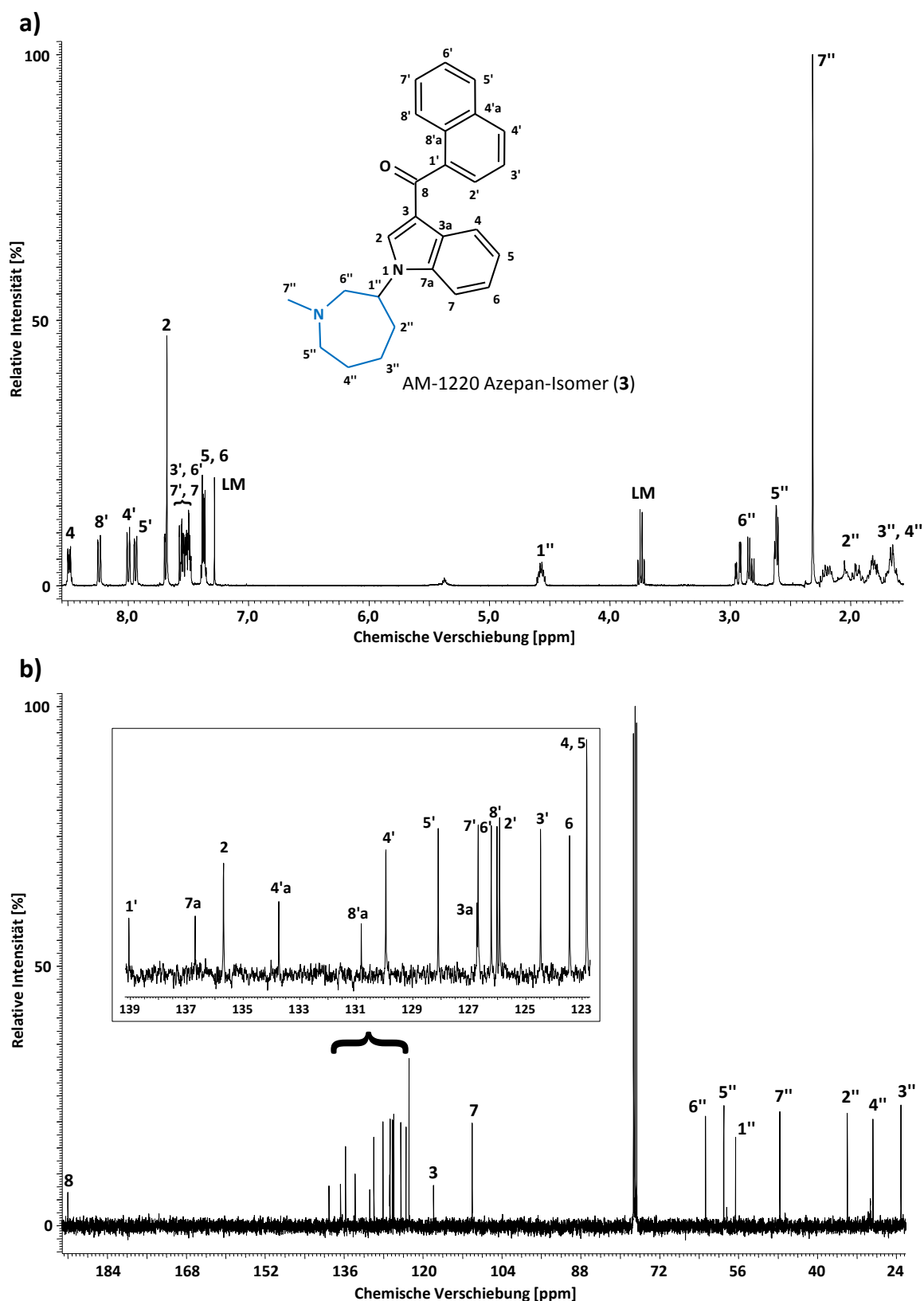


Abbildung 18 ^1H - (a, aufgenommen bei 400 MHz) sowie ^{13}C -NMR-Spektrum (b, aufgenommen bei 100,6 MHz) des Azepanisomers von AM-1220 (**3**) in CDCl_3 bei Raumtemperatur. Die einzelnen Signale sind der aufgeführten Strukturformel entsprechend nummeriert. LM: Lösungsmittelreste (Ethanol, $\delta = 3,74$ ppm; Chloroform, $\delta = 7,28$ ppm). Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten sind in Tabelle VII im Anhang aufgeführt.

1.3.3 Beurteilung von AM-1220 und dessen Azepan-Isomer im forensisch-toxikologischen Kontext

Im Gegensatz zu AB-001 war AM-1220 zum Zeitpunkt seiner Identifizierung bereits in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben worden. So charakterisierten zahlreiche Gruppen AM-1220 *in vitro* Assays als Substanz mit sowohl hoher CB₁-Bindungsaffinität als auch hoher cannabimimetischer Wirksamkeit^[29, 31, 38, 79, 80]. In *in vivo* Studien mit Ratten ermittelten *Järbe et al.* für racemisches AM-1220 darüber hinaus eine 8-fach höhere cannabimimetische Aktivität als THC^[81]. Für das Azepan-Isomer von AM-1220 sind in der wissenschaftlichen Literatur keine pharmakologisch-toxikologischen Daten verfügbar.

Da AM-1220 in großen Mengen über mehrere Internethandelsplattformen zum Kauf angeboten wurde, war es wenig überraschend, dass die Substanz im Mai 2011 – und somit lediglich wenige Wochen nach seiner strukturellen Aufklärung – zum ersten Mal in einer Räuchermischung identifiziert werden konnte. Im Zuge des weiteren Produktmonitorings wurde AM-1220 jedoch nur äußerst selten in Räuchermischungen vorgefunden (in 9 von 217 Produkten, 4 %). Die Untersuchung dieser Produkte lieferte in allen dieser Fälle ein EI-MS-Spektrum, das dem Mischspektrum aus AM-1220 und dessen Azepan-Isomer entsprach (Abbildung 12). Aus diesem Grunde wurden alle neun Produkte ebenfalls mittels DC analysiert, um die gleichzeitige Präsenz des Azepan-Isomers zu ermitteln. Interessanterweise enthielten alle dieser Produkte beide Substanzen.

Analog zur seltenen Präsenz in Räuchermischungen konnte AM-1220 während der praktischen Arbeiten trotz seiner zweifelsfrei hohen cannabimimetischen Aktivität ebenfalls nur in absoluten Einzelfällen in Serumproben nachgewiesen werden⁴. Ungeachtet dessen empfahl der Sachverständigenausschuss für BtM im Sommer des Jahres 2012 die Unterstellung beider Substanzen^[82].

1.3.4 Unterschiede in den EI-Fragmentierungsmustern von AM-1220 und dessen Azepan-Isomer

Wie oben beschrieben, weisen die EI-MS-Spektren von AM-1220 und dessen Azepan-Isomer signifikante Unterschiede auf. Das EI-MS-Spektrum von AM-1220 wird vor allem

⁴ AM-1220 und sein Azepan-Isomer waren mit der verwendeten LC/MS/MS-Methode nicht differenzierbar. Für eine detaillierte Erläuterung sei an dieser Stelle auf Kapitel 2.4 im Ergebnisteil verwiesen.

durch das prominente Fragment-Ion m/z 98 sowie dem nur äußerst schwachen Molekül-Ion m/z 382 charakterisiert (Abbildung 13). Das EI-MS-Spektrum seines Azepan-Isomers weist hingegen zahlreiche intensive Fragment-Ionen auf, u. a. ein prominentes Molekül-Ion m/z 382 (Abbildung 15). Im Falle von AM-1220 wird das intensive Fragment-Ion m/z 98 mit hoher Wahrscheinlichkeit infolge der Abspaltung des N-Methylpiperidin-Restes via α -Spaltung gebildet, wodurch ein energetisch begünstigtes – und somit favorisiertes – zyklisches Immonium-Ion entsteht. Betrachtet man die Struktur des Azepan-Isomers, so ist zu erkennen, dass eine α -Spaltung nicht direkt zur Abspaltung dieses zyklischen Immonium-Ions führen kann. Stattdessen entsteht als Folge der durch α -Spaltung induzierten Ringöffnung des Heterozyklus vermutlich das offenkettige Immonium-Molekül-Ion mit m/z 382. Dieses Ion kann anschließend weiter fragmentieren, was zur Entstehung jener zahlreichen Fragment-Ionen führt, die das EI-MS-Spektrum des Azepan-Isomers charakterisieren.

1.3.5 Postulierter Reaktionsmechanismus zur Bildung des Azepan-Isomers

Auf Grund der Tatsache, dass in allen Produkten, in denen AM-1220 identifiziert werden konnte, ebenfalls dessen Azepan-Isomer nachzuweisen war, ließ sich darauf schließen, dass das Gemisch beider Substanzen während der Synthese von AM-1220 erhalten wird. Laut *D'Ambra et al.* und *Willis et al.*^[31, 80], wird die Synthese von AM-1220 zunächst mit der Reaktion von Indol und dem heterozyklischen Edukt, das eine geeignete Abgangsgruppe an C-2 trägt (z. B. 2-(Chlormethyl)-1-methylpiperidin), gestartet. Das dabei entstehende Intermediat 1-[(1-Methylpiperidin-2-yl)methyl]-1*H*-indol wird anschließend im Rahmen einer Friedel-Crafts-Acylierung mittels Naphthoylchlorid zu AM-1220 umgesetzt (Abbildung 19, a). Beim ersten Syntheseschritt kann jedoch ebenfalls ein bizyklisches Kation formuliert werden, das infolge einer intramolekularen nukleophilen Reaktion entsteht. Dieses Kation kann nun auf zwei unterschiedlichen Wegen mit Indol reagieren: Der nukleophile Angriff des Indolstickstoffes an der Methylenfunktion des trizyklischen Ringes stellt die ursprüngliche N-Methylpiperidin-Gruppe wieder her und führt somit zur Entstehung des 1-[(1-Methylpiperidin-2-yl)methyl]-1*H*-indol Intermediates (Abbildung 19, b). Alternativ würde der Angriff der Methingruppe jedoch über eine Ringerweiterung zur Bildung eines zweiten Intermediates 1-(1-Methylazepan-3-yl)-methyl]-1*H*-indol (Abbildung 19, c) führen. Beide Spezies können nun eine Friedel-Crafts-Acylierung eingehen und auf

diese Weise einerseits zu AM-1220 und andererseits zu dessen Azepan-Isomer 1-(N-Methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indol (**3**) führen.

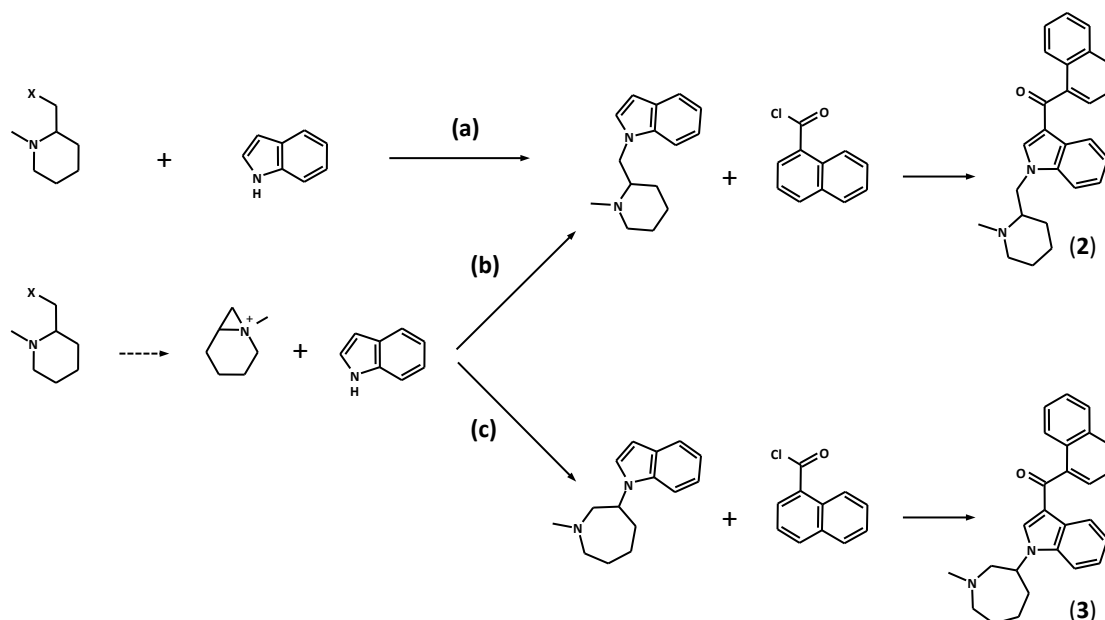


Abbildung 19 Postulierter Reaktionsmechanismus zur Bildung von AM-1220 (**2**) und dessen Azepan-Isomer (**3**). Für eine detaillierte Erläuterung siehe obere Textpassage.

D'Ambra et al.^[31] konnten zeigen, dass die Einführung des N-Methylpiperidin-Substituenten in das Aminoalkylindol-Grundgerüst zu einer Steigerung der CB₁-Bindungsaffinität führt. Aus diesem Grund war damit zu rechnen, dass nach AM-1220 weitere derartig substituierte Cannabimimetika in Räuchermischungen auftreten würden. Dies bewahrheitete sich mit der Identifizierung von Cannabipiperidiethanon^[66, 83], AM-1248^[84], AM-2233^[67, 84-87], sowie AB-005^[88]. Solange bei diesen Substanzen die Verknüpfung des N-Methylpiperidin-Ringes mit dem Indolstickstoff über den oben beschriebenen Syntheseweg realisiert werden würde, musste ferner davon ausgegangen werden, dass sie ebenfalls im Gemisch mit ihren Azepan-substituierten Isomeren vorliegen sollten. Dies wurde später für AB-005^[88] und AM-2233^[87] entsprechend beschrieben.

1.4 Ergebnisse des Produktmonitorings und Marktentwicklung während des Beobachtungszeitraumes

Die Ergebnisse der fast 400 Räuchermischungen, die im Zeitraum zwischen März 2010 bis Dezember 2012 qualitativ untersucht wurden, sind im Anhang in Tabelle V aufgeführt. Die

chemischen Strukturen aller laut der wissenschaftlichen Literatur weltweit bis zum August des Jahres 2013 in Räuchermischungen vorgefundenen synthetischen Cannabinoide sind in Tabelle I im Anhang dargestellt.

Während des Beobachtungszeitraumes konnten in den Produkten insgesamt 30 verschiedene synthetische Cannabinoide nachgewiesen werden, wobei vereinzelt sogar bis zu 8 verschiedene Substanzen nebeneinander in einem Produkt vorgefunden wurden (RM083). Insgesamt betrachtet, wurden fast ausschließlich Substanzen vom Alkylindol-Typ bzw. davon abgeleitete Derivate identifiziert. Wie zuvor von *Dresen et al.* für die zweite Hälfte des Jahres 2009 beobachtet^[89], wurden Cyclohexylphenole auch während des dreijährigen Beobachtungszeitraumes nur in absoluten Einzelfällen in den untersuchten Produkten vorgefunden.

Zu Beginn der Untersuchungen wurden zunächst die Substanzen JWH-081 und JWH-250 verstärkt aufgefunden, woraufhin der Sachverständigenausschuss für BtM am 03.05.2010 u. a. letzteres zur Unterstellung empfahl^[90]. Bemerkenswerterweise konnten nur wenige Wochen nach dieser Empfehlung mit AM-694, JWH-122 sowie JWH-210 neue Cannabimimetika in Räuchermischungen identifiziert werden. Nahezu zeitgleich wurden ebenfalls vereinzelt die neuen Substanzen AB-001, RCS-4 sowie dessen *ortho* Isomer in Produkten vorgefunden.

Am 06.12.2010 erweiterte der Expertenausschuss seine Empfehlung mit JWH-015, JWH-081 und JWH-122 auf fünf Substanzen^[91], worauf nur wenige Wochen später mit JWH-251 und JWH-203 zwei neue Ersatzstoffe in Räuchermischungen nachgewiesen werden konnten. Mit hoher Wahrscheinlichkeit trat dies als Reaktion auf die vorangegangene Empfehlung auf, da in Anbetracht der oben erwähnten Unterstellungen vom Januar 2009 bzw. Januar 2010 ebenfalls im Januar 2011 mit einer erneuten Änderung des BtMG gerechnet werden musste.

Nur wenige Wochen vor der nächsten Erweiterung der Unterstellungsempfehlung auf nunmehr insgesamt 12 Substanzen^[92], darunter u. a. das bis dato weit verbreitete JWH-210, wurden mit AM-2201 und dessen 4-Methylnaphthyl-Derivat MAM-2201 abermals neue synthetische Cannabinoide in Räuchermischungen identifiziert. Vor allem die Präsenz von AM-2201 nahm spätestens zu Beginn des Jahres 2012 stark zu, wobei die Häufigkeit von JWH-210 und JWH-203 gleichzeitig zurückging. In diesem Zeitraum wurde ferner eine Vielzahl neuer Substanzen aufgefunden, darunter JWH-307, UR-144, dessen an der

Pentylkette terminal fluoriertes Analogon XLR-11 sowie APICA und AKB48. Dies führte am 11.07.2012 zu einer erneuten Erweiterung der Unterstellungsempfehlung auf 19 Cannabimimetika^[82].

Am 26.07.2012 unterstellte der Gesetzgeber erneut eine Vielzahl der empfohlenen synthetischen Cannabinoide dem BtMG (siehe Tabelle III im Anhang)^[69]. AM-2201 und MAM-2201 sowie zahlreiche der erst kürzlich zuvor zum ersten Mal identifizierten Substanzen (z. B. JWH-307, APICA, AKB48, UR-144 und XLR-11) wurden dabei allerdings nicht berücksichtigt. Somit war es nicht besonders überraschend, dass vor allem die beiden letztgenannten Substanzen zum Ende des Untersuchungszeitraumes hin vermehrt in Räuchermischungen auftraten.

Hierauf reagierte der Gesetzgeber erneut, indem er mit der bisher letzten Änderung der betäubungsmittelrechtlichen Vorschriften vom 16.07.2013 nun zahlreiche dieser Substanzen dem BtMG unterstellte (siehe Tabelle III im Anhang)^[93], wodurch nunmehr insgesamt 31 synthetische Cannabinoide in der Anlage II des BtMG aufgeführt sind. Wie erwartet reagierte der Markt jedoch auch auf diesen Schritt, was die Identifizierung des strukturell neuartigen Cannabimimetikums PB-22-5F im Sommer 2013 eindrücklich zeigt^[94].

1.5 Schlussfolgerungen

Wie oben gezeigt, ergaben sich umfangreiche Verschiebungen des Substanzspektrums während des Untersuchungszeitraums vor allem nachdem der Gesetzgeber die Unterstellung weiterer Cannabimimetika unter das BtMG entweder ankündigte oder letztlich umsetzte. Dies legt zumindest die Vermutung nahe, dass die schrittweise Unterstellung von Einzelstoffen unter das BtMG die Markteinführung neuer Cannabimimetika anstößt. Die enorme Dynamik, mit der neue Substanzen auftreten, zeigt eindrücklich, dass die Produzenten von Räuchermischungen stets in der Lage sind, auf rechtliche Schritte des Gesetzgebers zu reagieren, indem sie kontinuierlich neue synthetische Cannabinoide auf dem Drogenmarkt einführen. Hierbei ist besonders auffällig, dass es sich bei den ersten in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoiden ausschließlich um Substanzen handelte, die im Hinblick auf ihre hohe CB₁-Bindungsaffinität bereits in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben wurden. Hierunter zählen im Besonderen Alkylindole, die entweder durch einen Naphthoyl-, Benzoyl- oder

Phenylacetylsubstituenten charakterisiert sind (z. B. JWH-018, AM-694 oder JWH-250). Typische Vertreter hierfür sind ebenfalls Substanzen mit zusätzlichen Substitutionsmustern wie Alkylierungen und Methoxylierungen des Naphthylsystems, Halogenierungen des Phenylrings sowie Modifikationen des N-Alkylsubstituenten (z. B. JWH-122 und JWH-081, JWH-203 oder AM-2201). Durch Kombination der wichtigsten Pharmakophore mit verschiedenen Substituenten ergeben sich somit nahezu unzählige Möglichkeiten neue synthetische Cannabinoide zu kreieren. Dadurch ergeben sich insbesondere Substanzen, die noch nicht in wissenschaftlichen Arbeiten beschrieben worden und zu denen folglich auch keine pharmakologischen Daten verfügbar sind. Beispielhaft für ein solches „Hybrid“ ist u. a. das von *Moosmann et al.* im Jahr 2011 beschriebene MAM-2201, das entweder als 4-Methylnaphthyl-Derivat von AM-2201 oder als pentyfluoriertes Analogon von JWH-122 angesehen werden kann^[77]. Wie an den Substanzen AKB48 sowie APICA ersichtlich, führte der Austausch des Indol- gegen ein Indazolsystem oder die Insertion einer Carboxamidpartialstruktur dagegen zu völlig neuen Verbindungen. Diese ausgesprochen große strukturelle Vielfalt ermöglicht es den Produzenten dieser Substanzen, strafverfolgenden Instanzen mehrere Schritte voraus zu sein. Im Rahmen der täglichen Fallarbeit entstehen somit zunehmend analytische Herausforderungen bei der Identifizierung neuartiger synthetischer Cannabinoide. So zeigt das Beispiel von AM-1220 und dessen Azepan Isomer, dass der alleinige Abgleich von GC/EI-MS-Spektren und Retentionsindizes mittlerweile nicht mehr in jedem Fall zur Substanzidentifizierung ausreicht. Vielmehr kann es zur Unterscheidung von Stellungsisomeren oder isobaren Verbindungen notwendig sein, zusätzliche analytische Verfahren wie IR-Spektroskopie, NMR oder Produktionenspektrometrie einzusetzen. Schwierigkeiten können auch nebeneinander vorliegende Isomere bereiten, die gaschromatographisch nicht getrennt werden und so bei der GC/MS-Untersuchung zu Mischspektren führen. Solche Isomere müssen zur eindeutigen Identifizierung gegebenenfalls mittels DC oder präparativer HPLC bzw. Flash-Chromatographie voneinander getrennt werden. Darüber hinaus erhöht sich durch die unzähligen Möglichkeiten neue Ersatzstoffe zu synthetisieren die Wahrscheinlichkeit, dass toxische Haupt- oder Nebenprodukte auftreten.

2 Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben

2.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Gaschromatographie-Massenspektrometrie mit Elektronenstoßionisation (GC/EI-MS) sowie Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie mit Elektrospray-Ionisation (LC/ESI-MS/MS) sind die im Bereich der klinischen und forensischen Analytik am häufigsten verwendeten Verfahren für einen sensitiven Nachweis von körperfremden Substanzen. Welches der beiden Verfahren idealerweise zur Anwendung kommen sollte, hängt jeweils von der chemischen Struktur der Zielanalyten ab. Der Einsatz von GC/MS ist im Allgemeinen auf wenig polare, leicht verdampfbare sowie thermostabile Substanzen beschränkt, wobei gegensätzliche Eigenschaften durch die Derivatisierung polarer funktioneller Gruppen (z. B. Silylierung oder Acetylierung) ggf. umgangen werden können. Für den Nachweis mittels LC/ESI-MS/MS sind demgegenüber insbesondere polare bzw. leicht ionisierbare Substanzen zugänglich, wodurch sich eine größere Anwendungsbreite für die LC/ESI-MS/MS-Analytik ergibt.

Berücksichtigt man die chemische Struktur der beiden Hauptklassen der bis zum Beginn der praktischen Arbeiten in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoide, ergeben sich somit für Cyclohexylphenole und Alkylindole jeweils unterschiedliche Nachweismöglichkeiten. Während für die Substanzen vom Cyclohexylphenol-Typ die Möglichkeit eines empfindlichen Nachweises sowohl mit GC/MS nach Derivatisierung als auch mit LC/ESI-MS/MS besteht, kommt für die Vertreter der Alkylindole hingegen nur letzteres in Betracht. Dabei muss berücksichtigt werden, dass für beide Substanzklassen auf Grund ihrer unterschiedlichen funktionellen Gruppen eine gegensätzliche Polarität der Hochspannung während des ESI-Prozesses erforderlich ist⁵. Da die synthetischen Cannabinoide vom Cyclohexylphenol-Typ zu Beginn der praktischen Arbeiten nur noch in seltenen Fällen in Räuchermischungen identifiziert wurden (siehe Kapitel 1.4 in diesem Abschnitt), kam somit nur die Entwicklung einer LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis der den Markt dominierenden Alkylindole in Betracht.

⁵ Cyclohexylphenole lassen sich auf Grund ihres phenolischen Charakters empfindlicher bei negativer ESI-Polarität ionisieren. Alkylindole sind wegen ihres basischen Charakters stattdessen besser bei positiver ESI-Polarität ionisierbar.

2.2 Entwicklung der verwendeten LC/ESI-MS/MS-Methode(n)

Auf Grund der Tatsache, dass zu Beginn des Jahres 2010 lediglich eine verhältnismäßig geringe Anzahl verschiedener Alkylindole in Räuchermischungen aufgetreten war, wurden zu Beginn der Methodenentwicklung zunächst 10 synthetische Cannabinoide in das Analytspektrum der LC/ESI-MS/MS-Methode aufgenommen (siehe Abbildung 20).

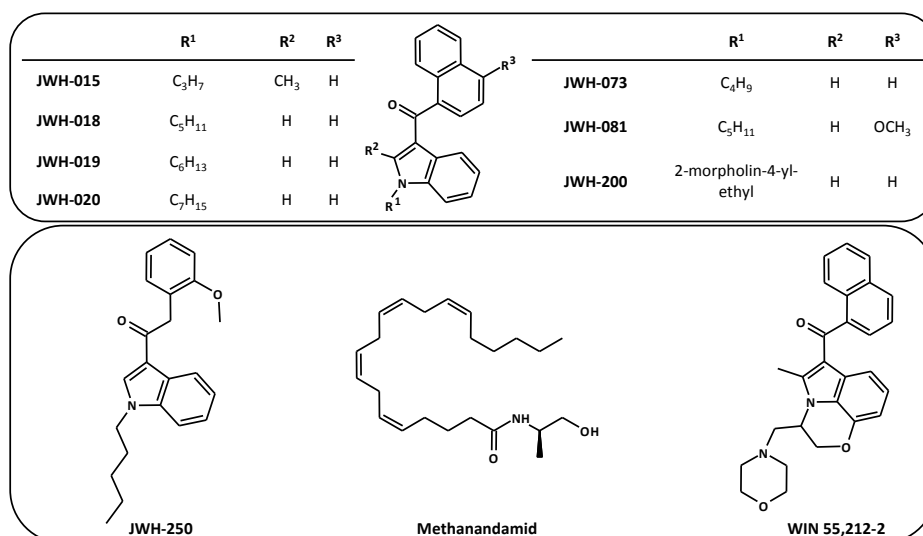


Abbildung 20 Synthetische Cannabinoide, die zu Beginn der Entwicklung und ersten Validierung der LC/ESI-MS/MS-Methode in deren Analytspektrum aufgenommen wurden.

Nach Testung verschiedener analytischer Säulen sowie mobiler Phasen fiel die Wahl auf eine Säule des Typs Luna Phenyl-Hexyl der Firma Phenomenex (50 x 2 mm, 5 µm) und ein binäres Laufmittelsystem bestehend aus 0,2 % Ameisensäure mit 2 mM Ammoniumformiat in Wasser (Laufmittel A₂) sowie Methanol, wodurch die Zielanalyten hinreichend chromatographisch getrennt werden konnten. Alle Analyten und internen Standards (ISTDs) wurden folgend hinsichtlich ihrer optimalen massenspektrometrischen Parameter⁶ durch Direktinfusion in das Massenspektrometer optimiert, um eine maximale Nachweisempfindlichkeit zu gewährleisten. Für die Extraktion der Analyten wurde eine einfache und kostengünstige flüssig-flüssig-Extraktion mittels eines Gemisches aus *n*-Hexan/Ethylacetat (9:1, V/V) ausgewählt. Die LC/ESI-MS/MS-Methode wurde im Anschluss entsprechend der Richtlinien der Gesellschaft für Forensische und Toxikologische Chemie

⁶ Optimierte Parameter: Declustering Potential (DP), Entrance Potential (EP), Collision Energy (CE) und Collision Cell Exit Potential (CXP).

(GTFCh) validiert^[95]. Für weitere Informationen zu dieser Arbeit sei an dieser Stelle auf die Publikation von *Dresen et al.*^[96] verwiesen.

Da bereits kurze Zeit nach erfolgreicher Validierung dieser Methode eine hohe Anzahl neuer synthetischer Cannabinoide in Räuchermischungen identifiziert werden konnte (u. a. JWH-122, JWH-210 und AM-694, Vgl. Kapitel 1.4 im Ergebnisteil), musste das Substanzspektrum der Methode an die gegenwärtige Marktsituation angepasst und somit deutlich erweitert werden. Im Zuge dieser Erweiterung auf 30 Substanzen (siehe Abbildung 21) konnten ebenfalls weitere isotopenmarkierte Derivate, die sukzessive kommerziell verfügbar geworden waren, als ISTDs eingesetzt werden (z. B. *D*₉-JWH-081, *D*₉-JWH-122 und *D*₉-JWH-210). Ebenfalls wurden leichte Änderungen bei der Probenaufarbeitung vorgenommen⁷, während die chromatographischen Bedingungen beibehalten wurden. Die somit stark erweiterte Methode wurde anschließend revalidiert. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sollen im Folgenden näher beschrieben werden.

⁷ Der Boratpuffer (pH 9) wurde durch Carbonatpuffer (pH 10) ersetzt. Der Volumenanteil von *n*-Hexan wurde von 9:1 auf 99:1 (V/V) erhöht.

(a)						R ¹	R ²	R ³
AM-1220	1-methylpiperidin-2-yl-methyl	H	H		JWH-387	C ₅ H ₁₁	H	Br
AM-2201	C ₅ H ₁₀ F	H	H		JWH-398	C ₅ H ₁₁	H	Cl
JWH-007	C ₅ H ₁₁	CH ₃	H		JWH-412	C ₅ H ₁₁	H	F
JWH-122	C ₅ H ₁₁	H	CH ₃		MAM-2201	C ₅ H ₁₀ F	H	CH ₃
JWH-210	C ₅ H ₁₁	H	C ₂ H ₅					

(b)				
	R ¹	R ²		
JWH-203	C ₅ H ₁₁	Cl		
JWH-251	C ₅ H ₁₁	CH ₃		
RCS-8	2-cyclohexylethyl	OCH ₃		

(c)						
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴		
AM-694	C ₅ H ₁₀ F	H	I	H		
AM-2233	1-methylpiperidin-2-yl-methyl	H	I	H		
RCS-4	C ₅ H ₁₁	H	H	OCH ₃		
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	C ₅ H ₁₁	H	OCH ₃	H		
WIN 48,098	2-morpholin-4-yl-ethyl	CH ₃	H	OCH ₃		

AB-001	CRA-13	JWH-307

Abbildung 21 Synthetische Cannabinoide, die im Rahmen der ersten Erweiterung und zweiten Validierung der LC/ESI-MS/MS-Methode zu deren Analytspektrum hinzugefügt wurden. (a) Naphthoylindole, (b) Phenylacetylindole, (c) Benzoylindole.

2.3 Validierungsergebnisse

Der Übersichtlichkeit halber sind in diesem Kapitel nur die Kernergebnisse der Methodenvvalidierung zusammengefasst. Die einzelnen Messergebnisse sind den jeweils referenzierten Tabellen im Anhang zu entnehmen.

Um mögliche Interferenzen mit endogenen Substanzen oder Reagenzien und Materialien, die zur Probenaufarbeitung verwendet wurden, zu ermitteln, wurden sechs Matrixleerproben von verschiedenen Spendern ohne Zusatz von Analyten oder ISTDs untersucht. Um auf etwaige Anteile undeutlierter Substanzen im ISTD-Gemisch zu prüfen, wurden zusätzlich zwei Matrixleerproben mit dem ISTD-Gemisch versetzt und analysiert. Darüber hinaus wurden Leerproben mit gängigen Drogen (Benzodiazepine, Amphetamin und Amphetamin-

Derivate, Designer-Stimulanzen, natürliche Cannabinoide, Opioide und Kokain) aufdotiert, extrahiert und analysiert. Bei Analyse dieser Proben traten keine chromatographischen Interferenzen (Störpeaks) auf den Ionenspuren der Analyten zur jeweiligen Retentionszeit auf.

Die Prüfung auf Linearität durch Analyse von sechs Kalibrationen über die substanzspezifischen Kalibrationsbereiche zeigte, dass mit Ausnahme von AB-001, CRA-13 und des *ortho* Isomers von RCS-4 für alle der 30 Analyten ein proportionaler Zusammenhang zwischen Konzentration und Messsignal besteht (Korrelationskoeffizienten $> 0,993$). Somit können 27 der erfassten Analyten quantitativ mit der Nachweismethode bestimmt werden, wobei zur Erfüllung der Varianzhomogenität eine $1/x$ -Wichtung der Kalibration vorgenommen werden muss (siehe Tabelle VIII im Anhang).

Für Analyten, die mit der LC/ESI-MS/MS-Methode quantitativ analysiert werden können, wurde die Nachweis- (limit of detection, LOD) sowie die Bestimmungsgrenze (lower limit of quantification, LLOQ) statistisch gemäß DIN 32645 berechnet. Hierfür wurden 10 äquidistante Kalibratoren mit aufsteigenden Konzentrationen in direkter Nähe zur erwarteten Nachweisgrenze hergestellt und analysiert. Die Konzentration des höchsten zur statistischen Berechnung des LOD und LLOQ verwendeten Kalibrators durfte dabei das 10-fache des letztendlich berechneten Wertes nicht übersteigen. Für Analyten, die nicht quantitativ analysiert werden können, wurde die Nachweisgrenze anhand von Signal-zu-Rausch-Verhältnissen ermittelt. Hierfür wurden fünf Leerproben von verschiedenen Spendern auf die zu erwartende Nachweisgrenze aufdotiert und analysiert. Jene niedrigste Konzentration, für die bei allen Proben sowohl für das Qualifier- als auch für das Quantifier-Ion der betreffenden Analyten ein Signal-zu-Rausch-Verhältnis von ≥ 3 erreicht wurde, wurde als LOD definiert. Für die analytischen Grenzen ergaben sich LOD-Werte zwischen 0,01 – 2,0 ng/mL sowie LLOQ-Werte von 0,1 - 2,0 ng/mL, womit gezeigt werden konnte, dass die entwickelte Methode zum hochempfindlichen Nachweis der Zielanalyten geeignet ist (siehe Tabelle VIII im Anhang).

Zur Beurteilung der Richtigkeit und Impräzision (ausgedrückt als Bias) der Methode wurden jeweils an acht verschiedenen Tagen Qualitätskontrollen eines niedrigen sowie eines hohen Konzentrationsniveaus in Doppeltbestimmung analysiert. Die Auswertung ergab Bias-Werte von maximal $\pm 8,4$ % sowie eine maximale Impräzision von 5,8 %, was die Akzeptanzkriterien der GTFCh erfüllte (siehe Tabelle IX im Anhang). Es konnte somit gezeigt werden, dass die

Methode für jene Analyten, für die eine ausreichende Linearität gegeben war, ebenfalls eine präzise und genaue Konzentrationsbestimmung innerhalb ihres jeweiligen Kalibrationsbereiches ermöglicht.

Nach der Methode von *Matuszewski et al.* kann eine LC/MS(/MS)-Methode durch Analyse von verschiedenen Probensets im Hinblick auf Matrixeffekte, Extraktions- sowie Prozessausbeuten charakterisiert werden^[97]. Die Proben für Set 1 bestehen hierbei aus Analyt in Laufmittel. Die Proben von Set 2 werden erhalten, indem der Extrakt einer Matrixleerprobe mit dem Analyten aufdotiert wird. Dotiert man eine Matrixleerprobe mit dem Analyten auf und unterzieht sie einer kompletten Probenaufarbeitung erhält man Set 3. Nach Analyse der einzelnen Sets auf zwei verschiedenen Konzentrationsniveaus können durch Vergleich der erhaltenen absoluten Peakflächen Rückschlüsse auf (1) den Einfluss co-eluierender Matrix, (2) der Extraktionseffizienz sowie (3) der Prozesseffizienz gezogen werden. Alle Sets müssen hierbei mit Matrixleerproben von mindestens fünf verschiedenen Spendern hergestellt und untersucht werden, um eine ausreichend unterschiedliche Variabilität der Matrixbeschaffenheit zu gewährleisten. Die Prüfung auf Matrixeffekte wies auf deutliche Einflüsse co-eluierender Matrixkomponenten auf die Ionisation der Zielanalyten hin (siehe Tabelle X und Tabelle XI im Anhang). Bei den hydrophileren Analyten (z. B. JWH-200, WIN 48,098, AM-1220 und AM-2233) äußerte sich dies zum Teil in einer leichten Verstärkung des Ionensignals (Ion Enhancement). Demgegenüber unterlagen im Besonderen die hochlipophilen Analyten (z. B. JWH-210, JWH-387, JWH-398 und CRA-13) einer starken Unterdrückung ihres Signals (Ion Suppression). Sowohl Ion Enhancement als auch Ion Suppression können zu Ungenauigkeiten bei der Quantifizierung führen, insofern die Signale des betreffenden Analyten und dessen zugewiesenem ISTD in stark unterschiedlichem Ausmaß von co-eluierenden Matrixbestandteilen beeinflusst werden. Das Ausmaß der Ionensuppression überschritt für einzelne Analyten die Akzeptanzkriterien der GTFCh, so dass durch eine zweite Betrachtung der Ergebnisse gezeigt werden musste, dass hierdurch die Genauigkeit der Quantifizierung nicht signifikant beeinträchtigt wird. Zu diesem Zweck wurde ein Vergleich der relativen Peakflächen⁸ durchgeführt. Es zeigte sich, dass der jeweilig zugewiesene ISTD den Einfluss der matrixbedingten Änderung des Ionensignals reproduzierbar ausgleichen konnte ($RSD < 5,0\%$) und somit eine präzise

⁸ Verhältnis aus Peakfläche des Analyten/Peakfläche des zugewiesenen ISTD.

quantitative Bestimmung der Substanzen gewährleistet war. Die Extraktions- und Prozessausbeuten ergaben sich zu 6,0 – 56 % (RSD 2,5 – 42 %) bzw. 1,0 – 63 % (RSD 2,9 – 32 %), wodurch gezeigt wurde, dass sich die verwendete Extraktionsmethode mit Ausnahme von CRA-13 sowie Methanandamid zur Extraktion der Analyten eignete.

Die Bestimmung der Stabilität aufgearbeiteter Proben im Autosampler bei 10 °C zeigte keine signifikante Abnahme der Peakflächen der Analyten und ISTDs über einen Zeitraum von 9 Stunden (Wiederfindungen 91 – 103 %, siehe Tabelle XII im Anhang). Dies bewies, dass mit der Methode problemlos große Probenserien analysiert werden konnten. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Stabilität der Analyten sowohl bei mehrmaligem Einfrieren/Auftauen als auch bei Langzeitlagerung der Proben bei –20 °C über 14 Tage gegeben ist (Wiederfindungen 94 – 111 %, RSD ≤ 5,3 %, siehe Tabelle XIII im Anhang). Bei der Reanalyse einzelner Proben musste demnach nicht mit einer instabilitätsbedingten Abnahme der Analytkonzentrationen gerechnet werden.

Die Prüfung auf carry-over nach Injektion einer Leerprobe, die zuvor auf das 50-fache des höchsten Kalibranten aufdotiert wurde, zeigte keine Analytsignale in den darauffolgend analysierten Leerproben, so dass auch bei der Analyse von Proben mit äußerst hohen Analytkonzentrationen keine Verschleppung der Analyten in die Folgeprobe(n) der Analysenserie zu erwarten war.

2.4 Leistungsgrenzen der LC/ESI-MS/MS-Methode

Obwohl durch die Validierung gezeigt werden konnte, dass sich die Methode zu einem präzisen und hochempfindlichen Nachweis der erfassten synthetischen Cannabinoide in humanen Serumproben eignet, soll folgend kurz auf wichtige Leistungsgrenzen der Methode hingewiesen werden.

Während bei der Analyse der Matrixleerproben im Rahmen der Validierung keine Interferenzen auf den Ionenspuren der Analyten beobachtet wurden, traten jedoch später im Zuge der Routineanwendung in manchen authentischen Proben Störsignale auf beiden Ionenspuren und zur identischen Retentionszeit der Substanz MAM-2201 auf. Unter Berücksichtigung der für die Analytik mittels MS/MS-Methoden existierenden

Identifizierungskriterien⁹ kann dies zu einer irrtümlichen Identifizierung des Störsignals führen. Wegen signifikant unterschiedlicher Qualifier/Quantifier-Ionenverhältnisse kam es in diesen Fällen jedoch zu keiner falsch-positiven Identifizierung (siehe Abbildung 22).

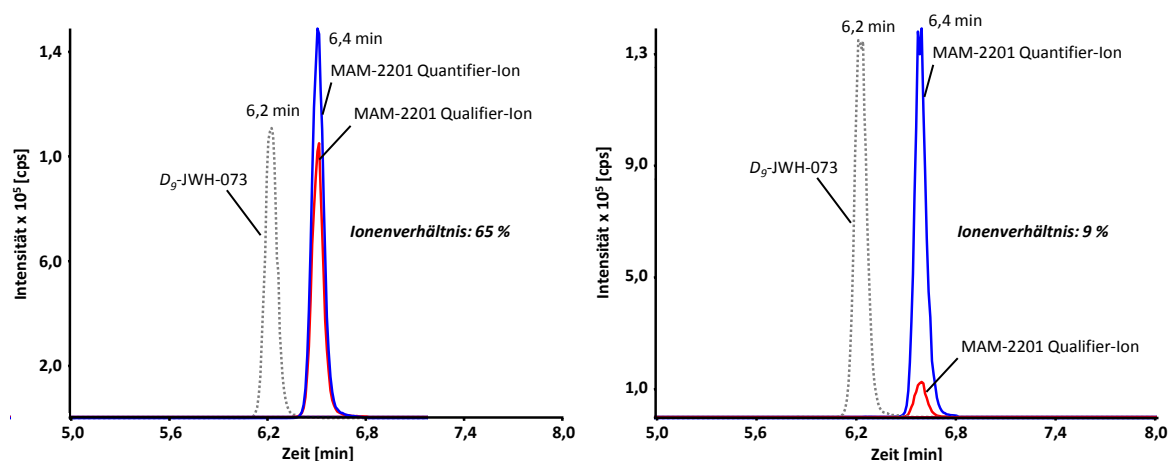


Abbildung 22 MAM-2201 Quantifier- und Qualifier-Ionenspuren in einer positiven Probe mit nachgewiesenem Analyten (links) sowie in einer negativen Probe mit Störsignalen (rechts). Auf Grund des zu geringen Ionenverhältnisses kommt es bei Vorliegen der Störsignale zu keiner falsch-positiven Identifizierung.

Eine weitere Limitation der Methode ist, dass es unter den gewählten Bedingungen nicht möglich ist die Substanzen AM-1220 und AM-2233 chromatographisch von ihren Azepan-substituierten Analoga zu trennen. Angesichts dessen, dass die Substanzpaare auch jeweils dieselben Quantifier- und Qualifier-Ionenübergänge besitzen, war eine Unterscheidung der jeweiligen Isomere mit der LC/ESI-MS/MS-Methode nicht möglich. Da im Zeitraum der praktischen Arbeiten die Gesetzgebung jedoch keine rechtliche Unterscheidung der Isomere vornahm, wurden folglich alle Signale auf den Ionenspuren aus praktischen Gründen unter den Hauptsubstanzen AM-1220 bzw. AM-2233 zusammengefasst.

2.5 Erneute Erweiterungen der LC/ESI-MS/MS-Methode

In Anbetracht dessen, dass gegen Ende der praktischen Arbeiten neue, noch nicht von der Methode erfasste synthetische Cannabinoide in Räuchermischungen identifiziert oder als Feststoff sichergestellt wurden, musste das Substanzspektrum abermals sukzessive

⁹ Es müssen folgende Kriterien zur Identifizierung eines Analyten erfüllt sein: 1) Korrekte relative Retentionszeit (Analyt/ISTD); 2) Signal-zu-Rausch-Verhältnis von mindestens zwei Ionenübergängen ≥ 3 ; 3) Flächenverhältnis zwischen den erfassten Ionenübergängen muss dem substanzspezifischen Wert entsprechen ($\pm$ zulässiger, experimentell bedingter Abweichungen).

erweitert werden. Im Zuge dieser Erweiterungen wurden die Substanzen AKB48^[67, 84], AKB48-5F^[98], AM-1248^[84], AM-2232^[67], APICA^[67, 84], JWH-370, STS-135^[98], UR-144^[67, 88, 99, 100] und XLR-11^[67, 88, 100] sowie die infolge einer thermisch induzierten Ringöffnung entstehenden Isomere^[88, 99, 100] der beiden letztgenannten Verbindungen in die Methode integriert (siehe Abbildung 23). Da die erweiterte Methode nicht erneut revalidiert wurde, erfolgte der Nachweis der neu aufgenommenen Substanzen - mit Ausnahme von Einzelfällen - lediglich qualitativ.

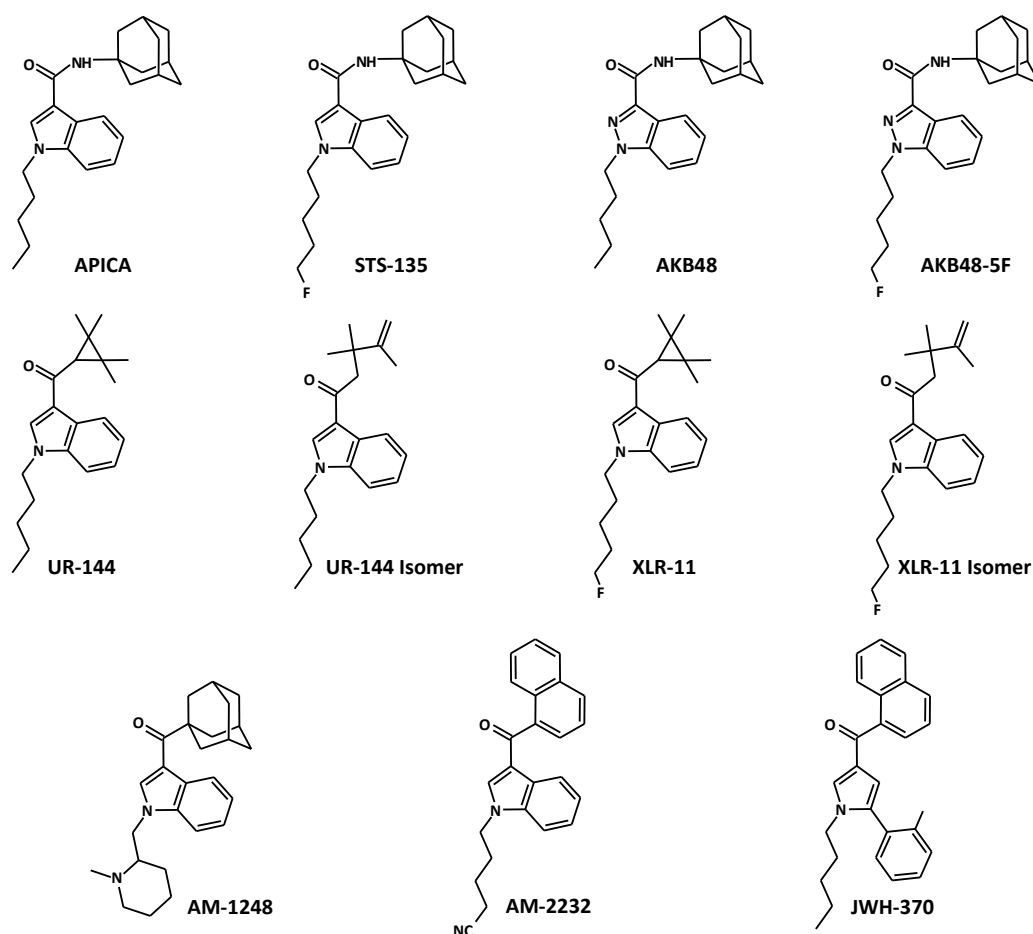


Abbildung 23 Synthetische Cannabinoide, die im Rahmen der zweiten Erweiterung der LC/ESI-MS/MS-Methode zu deren Analytspektrum hinzugefügt wurden.

2.6 Anwendung der Serumanalytik in der forensisch- und klinisch-toxikologischen Fallarbeit

2.6.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Die entwickelte LC/ESI-MS/MS-Methode wurde in dem von Februar 2010 bis Ende Dezember 2012 im Rahmen der täglichen Fallarbeit im Institut für Rechtsmedizin Freiburg angewendet. Analysiert wurden insgesamt 3368 Fälle, u. a. aus den folgenden Anwendungsbereichen:

- klinische Notfälle nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden
- Straßenverkehrsdelikte
- Abstinenzkontrolle in Therapieeinrichtungen (insbesondere bei Unterbringung gemäß §63 oder §64 StGB)
- Todesfälle mit unklarer Todesursache

In Abbildung 24 ist ein Ausschnitt aus dem extrahierten Ionenchromatogramm einer Serumprobe dargestellt, die im Rahmen der Routineanalytik positiv auf synthetische Cannabinoide getestet wurde.

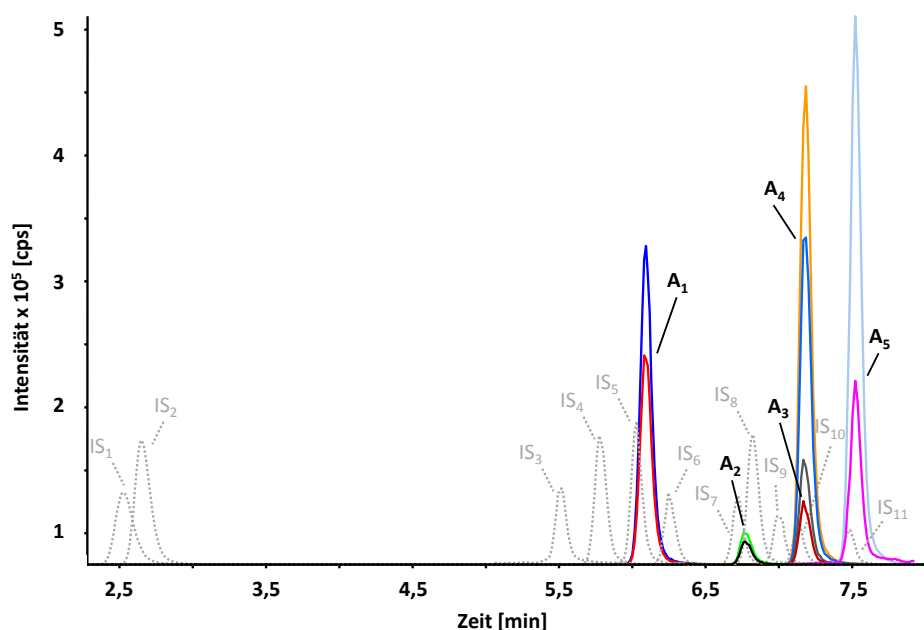


Abbildung 24 Ausschnitt aus dem extrahierten Ionenchromatogramm einer authentischen Serumprobe. Fünf synthetische Cannabinoide wurden nachgewiesen. (A₁) AM-2201 1,2 ng/mL, (A₂) JWH-018 0,10 ng/mL, (A₃) JWH-019 8,9 ng/mL, (A₄) JWH-122 1,5 ng/mL, (A₅) JWH-210 18 ng/mL; (IS₁) D₅-JWH-200, (IS₂) D₇-Flunitrazepam, (IS₃) D₃-11-OH-THC, (IS₄) D₇-JWH-015, (IS₅) D₅-JWH-250, (IS₆) D₉-JWH-073, (IS₇) D₁₁-JWH-018, (IS₈) D₉-JWH-007, (IS₉) D₉-JWH-081, (IS₁₀) D₉-JWH-122, (IS₁₁) D₉-JWH-210.

2.6.1.1 Qualitative und quantitative Betrachtungen

Tabelle 1 gibt eine Zusammenfassung der während des Anwendungszeitraumes nachgewiesenen synthetischen Cannabinoide im Hinblick auf Nachweishäufigkeit und charakteristische Serumkonzentrationen.

Tabelle 1 Ergebnisse von 894 Serumproben, die zwischen Februar 2010 und Dezember 2012 routinemäßig unter Verwendung der entwickelten LC/ESI-MS/MS Methode positiv auf synthetische Cannabinoide analysiert wurden. Angegeben sind Daten zur Nachweishäufigkeit sowie charakteristischen Serumkonzentrationen, die während des Anwendungszeitraumes festgestellt wurden.

Analyt	Positive Proben (n)	Insgesamt Positive [%]	Häufigkeit in positiven Proben [%]	≥ LOD < LLOQ (n)	≥ LOD < LLOQ [%]	Höchste Konzentration [ng/mL]*	Mediane Konzentration [ng/mL]
AB-001 ^a	5	0,15	0,56	4	80	57	-
AKB48-5F ^b	3	0,09	0,34	-	-	-	-
AM-1220	5	0,15	0,56	-	-	2,5	1,1
AM-2201	84	2,5	9,4	14	17	61	0,37
AM-2232 ^b	2	0,06	0,22	-	-	-	-
AM-694	6	0,18	0,67	1	17	1,7	0,72
JWH-007	6	0,18	0,67	6	100	-	-
JWH-015	11	0,33	1,2	9	82	0,58	0,44
JWH-018	139	4,1	16	69	50	15	0,42
JWH-019	20	0,59	2,2	1	5,0	11	0,40
JWH-073	28	0,83	3,1	13	46	7,1	0,25

Analyt	Positive Proben (n)	Insgesamt Positive [%]	Häufigkeit in positiven Proben [%]	≥ LOD < LLOQ (n)	≥ LOD < LLOQ [%]	Höchste Konzentration [ng/mL]*	Mediane Konzentration [ng/mL]
JWH-081	267	7,9	30	21	7,9	84	0,87
JWH-122	415	12	46	57	14	700	0,62
JWH-200	38	1,1	4,3	6	16	36	1,0
JWH-203	18	0,53	2,0	0	0	6,0	0,62
JWH-210	447	13	50	8	1,8	880	1,1
JWH-250	128	3,8	14	24	19	27	0,97
JWH-251	1	0,03	0,11	1	100	-	-
JWH-307	76	2,3	8,5	32	42	53	0,35
MAM-2201	22	0,65	2,5	7	32	14	1,5
RCS-4	24	0,71	2,7	2	8,3	8,3	0,21
UR-144 ^a	7	0,21	0,78	1	6,3	5,7	0,21
UR-144 ^b	9	0,27	1,0	-	-	-	-
UR-144 Isomer ^b	16	0,48	1,8	-	-	-	-
WIN 48,098	1	0,03	0,11	1	100	-	-
XLR-11 ^b	11	0,33	1,2	-	-	-	-
XLR-11 Isomer ^b	11	0,33	1,2	-	-	-	-

* Serumkonzentrationen oberhalb des höchsten Kalibranten wurden extrapoliert oder nach Verdünnung mit mobiler Phase reinjiziert

^a semiquantitative Bestimmung

^b qualitative Bestimmung

Hierbei ist deutlich zu erkennen, dass für den Großteil der nachgewiesenen Substanzen mediane Serumkonzentrationen von $\leq 1,1$ ng/mL erhalten wurden. Vergleichbare Konzentrationen berichteten *Kronstrand et al.* in Vollblut nach Auswertung von 862 Straßenverkehrsdelikten, bei denen die zugehörige Probe positiv auf synthetische Cannabinoide getestet wurde. Die hierbei von den Autoren verwendete LC/ESI-MS/MS-Methode erfasste mit 29 synthetischen Cannabinoiden ein umfangreiches und hochaktuelles Substanzspektrum. Von den erfassten Substanzen wurden insgesamt 14 mindestens einmal innerhalb des analysierten Probengutes vorgefunden^[101].

In Abbildung 25 ist die relative Nachweishäufigkeit ausgewählter synthetischer Cannabinoide in Serumproben im Zusammenhang mit dem Zeitpunkt ihres Nachweises dargestellt. Hierbei fällt zunächst auf, dass die Ergebnisse weitestgehend der zeitlichen Verteilung der einzelnen Substanzen in neu auf dem Drogenmarkt veröffentlichten Räuchermischungen entsprechen. So konnten zu Beginn der praktischen Arbeiten zunächst nahezu ausschließlich die beiden Substanzen JWH-081 und JWH-250 in Serumproben nachgewiesen werden (Abbildung 25a). Nachdem der Sachverständigenausschuss für BtM ihre Unterstellung unter das BtMG

empfohlen hatte^[90, 91], nahm ihre Nachweishäufigkeit jedoch deutlich ab. Spätestens seit Beginn des Jahres 2011 waren beide Substanzen - mit Ausnahme von Einzelfällen – nicht mehr in Blutproben präsent.

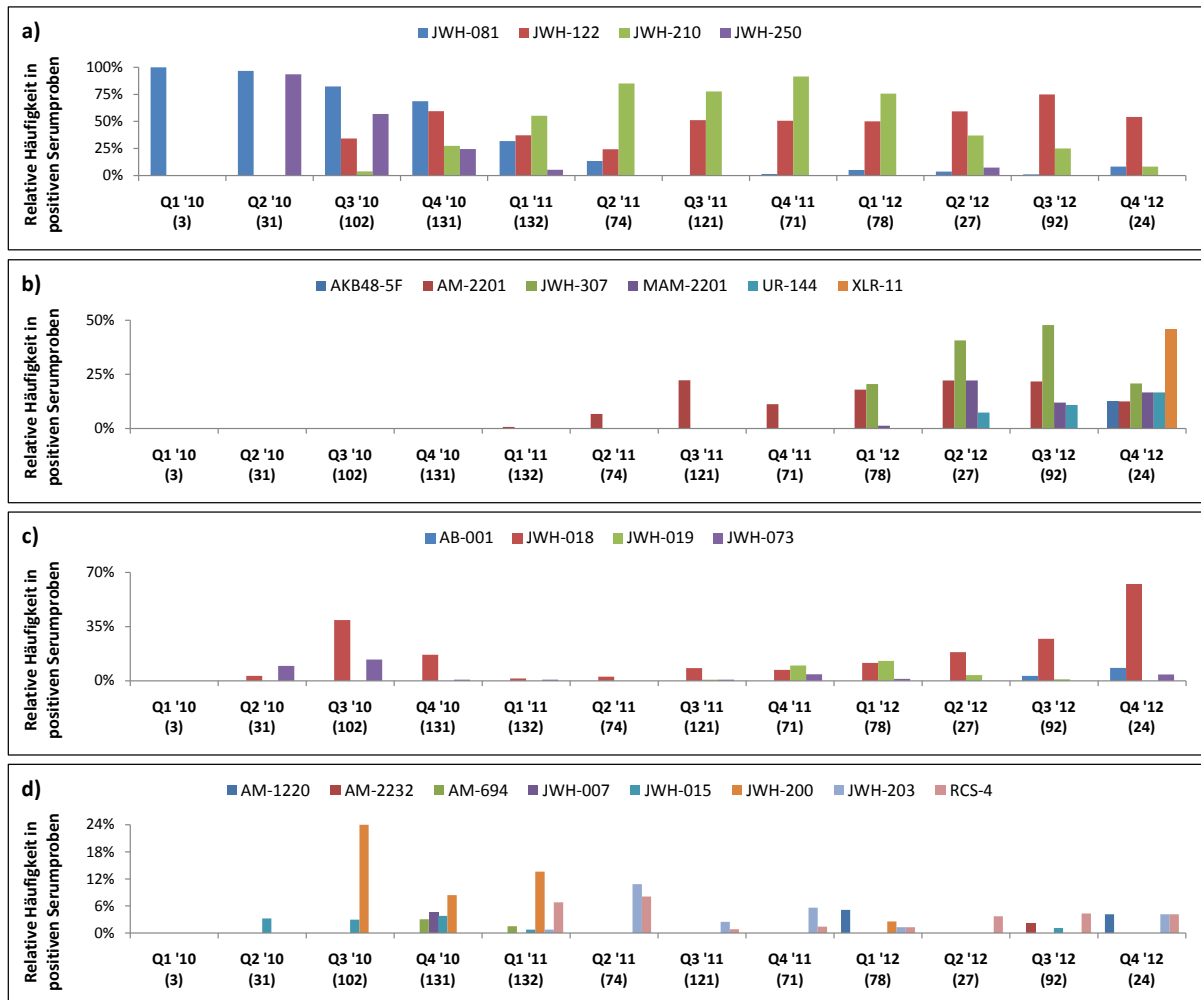


Abbildung 25 Relative, quartalsbezogene Nachweishäufigkeit synthetischer Cannabinoide in positiven Serumproben während des Beobachtungszeitraumes (Anfang 2010 bis Ende 2012). In Klammern angegeben ist jeweils die Anzahl der positiven Proben innerhalb des entsprechenden Quartals (Q).

Im Zuge dieser Entwicklung konnten die beiden potenteren Substanzen JWH-122 und JWH-210 zum ersten Mal in Serumproben nachgewiesen werden. Wie in Abbildung 25a zu erkennen ist, nahm deren relative Nachweishäufigkeit parallel zum Rückgang von JWH-081 und JWH-250 kontinuierlich zu. JWH-122 und JWH-210 stellten anschließend die am häufigsten in Blutproben detektierten synthetischen Cannabinoide dar, wobei vor allem JWH-122 auch bis zum Ende des Betrachtungszeitraumes regelmäßig nachgewiesen werden konnte. Die rechtlichen Maßnahmen des Gesetzgebers, die letztlich zur Unterstellung der Substanz im Sommer 2012 führten, hatten somit offensichtlich kaum Einfluss auf die Nachweishäufigkeit von JWH-122.

Das Spektrum nachgewiesener Substanzen erweiterte sich im Jahr 2011 zunächst vorwiegend durch AM-2201. Darauf folgend wurde im Jahr 2012 die Substanz JWH-307 verhältnismäßig häufig in Blutproben nachgewiesen (Abbildung 25b).

Die bereits beschriebene deutliche Verschiebung des Substanzspektrums in neuen Räuchermischungen, die im Zeitraum des Beschlusses der 26. BtMÄndV^[69] auftrat, war auch im Bereich der Serumanalytik erkennbar. So wurden vor allem in der zweiten Hälfte des Jahres 2012 neben JWH-122 verstärkt die Substanzen UR-144 sowie XLR-11 in Serumproben detektiert.

In Abbildung 25c ist die relative Nachweishäufigkeit der bereits im Januar 2009 bzw. 2010 unterstellten synthetischen Cannabinoide JWH-018^[102], JWH-019^[52] und JWH-073^[52] sowie des im Sommer 2012 unterstellten AB-001^[69] dargestellt. Auffällig ist hierbei einerseits, dass JWH-018 über den gesamten Beobachtungszeitraum regelmäßig nachgewiesen werden konnte, wobei es vor allem gegen Ende des Jahres 2012 wieder verstärkt in Serumproben auftrat. Demgegenüber ist überraschend, dass die beiden Substanzen JWH-019 und AB-001 erst nach ihrer Unterstellung zum ersten Mal in Blutproben gefunden wurden.

Wie in Tabelle 1 bereits erkennbar, wurden über den fast dreijährigen Untersuchungszeitraum insgesamt 27 verschiedene synthetische Cannabinoide in Blutproben detektiert. Abbildung 25d gibt einen zeitlichen Überblick für ausgewählte Analyten, die äußerst selten nachgewiesen werden konnten.

2.6.1.2 Schlussfolgerungen

Anhand der oben angeführten Betrachtungen ergeben sich mehrere Schlussfolgerungen. Die erhaltenen medianen Serumkonzentrationen zeigen deutlich, dass für den Nachweis von synthetischen Cannabinoiden hochempfindliche Routineverfahren zur Anwendung kommen müssen, um die für die Praxis relevanten Serumspiegel auch sicher erfassen zu können. Desweiteren spiegelte sich das breite Substanzspektrum, das während des Beobachtungszeitraumes in Räuchermischungen beobachtet wurde, in umfangreichen Fluktuationen selten nachgewiesener Analyten wider (siehe Abbildung 25d). Unter analytischen Gesichtspunkten betrachtet hat dies zur Folge, dass Nachweisverfahren permanent an das gegenwärtige Substanzspektrum angepasst werden müssen, um einen Konsum von synthetischen Cannabinoiden nachweisen zu können. Vor allem jedoch bei

Vorliegen eines negativen Analyseergebnisses muss sichergestellt sein, dass die verwendete Nachweismethode das gesamte Substanzspektrum abbildet, um einen Konsum von synthetischen Cannabinoiden auch mit einer hohen Beweiskraft ausschließen zu können. Demnach ist es auf Grund der enormen Anzahl an Cannabimimetika, die seit Ende 2008 in Räuchermischungen identifiziert wurden, nicht ausreichend lediglich jene gesetzlich regulierten Substanzen in einem Nachweisverfahren zu berücksichtigen. Durch die Notwendigkeit einer solchen regelmäßigen Aktualisierung steigen allerdings auch zunehmend die Anforderungen an analytische Routineverfahren. Beispielsweise kommt vor allem im Hinblick auf isobare Verbindungen mit identischen intensiven Massenübergängen der chromatographischen Trennung eine steigende Bedeutung zu. Einer kontinuierlichen Erweiterung des Analytspektrums sind bei der Verwendung von Nachweisverfahren, die lediglich auf einer Targetanalyse beruhen (z. B. MRM-Methoden), allerdings ebenfalls Grenzen gesetzt, da eine solche früher oder später unweigerlich mit einer Verringerung der Messempfindlichkeit einhergeht. Ein weiterer Nachteil von MRM-Methoden ist die Tatsache, dass bestimmte Massen zur Erhöhung der Messempfindlichkeit über die Quadrupole „ausgeblendet“ werden. Eine nachträgliche Überprüfung von Messdaten, ob eine Substanz, die zum Analysenzeitpunkt noch nicht von der Methode erfasst wurde, dennoch in der Probe präsent war, ist somit nicht möglich. Ein geeigneter Ansatz zum Umgehen dieser Problematik ist die Verwendung von hochauflösender Massenspektrometrie, einer Technik, die im Vergleich zu Triple-Quadrupol-Geräten allerdings instrumentell deutlich teurer und oftmals weniger empfindlich ist. Aus diesem Grund basiert die beträchtliche Mehrheit der zur Analyse von synthetischen Cannabinoiden bzw. deren Metaboliten in humanen Matrices verwendeten Nachweisverfahren auf der Nutzung von Triple-Quadrupol-Geräten^[96, 101, 103-123].

2.6.2 Toxikologische Beurteilung synthetischer Cannabinoide anhand klinischer Notfälle

2.6.2.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Bereits wenige Monate nach Identifizierung von JWH-018 und CP-47,497 sowie dessen C₈-Homologem in Räuchermischungen berichteten *Zimmermann et al.* von einem 20-jährigen Patienten, der über einen Zeitraum von 8 Monaten täglich „Spice Gold“ konsumiert hatte und infolgedessen ein Entzugssyndrom sowie eine Abhängigkeit entwickelte^[124]. In der

Folgezeit wurden in der wissenschaftlichen Literatur zunehmend klinische Notfälle beschrieben, die mit einem Konsum von Räuchermischungen in Zusammenhang gebracht wurden. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die im Rahmen dieser Fallbeispiele vorrangig beobachteten Symptome.

Tabelle 2 Hauptsymptome, die in klinischen Notfällen nach vermutlichem Konsum von Räuchermischungen beobachtet wurden sowie Angabe der entsprechenden Literaturstellen.

	Symptom	Referenz
Nervensystem & Zentrale Effekte	Akute Psychose	[57, 125-129]
	Agitation	[126, 127, 129-141]
	Halluzinationen	[128-130, 135-137, 139-143]
	Angst/Panik	[56, 57, 126, 129, 134, 136, 138-141, 143, 144]
	Paranoia	[56, 127, 129, 132, 135, 137, 140, 143]
	Somnolenz	[132, 133, 145, 146]
	Bewusstlosigkeit/Koma	[130, 136, 137, 146, 147]
	Krämpfe	[130, 131, 133, 136, 137, 145, 146, 148-150]
Herz-Kreislauf-System & Kardiovaskuläre Effekte	Tachykardie	[126, 130-139, 141, 142, 144, 146, 147]
	Bradykardie	[130, 137, 142]
	Brustschmerz	[130, 135, 136, 142, 147, 151]
	Hypertonie	[126, 130, 132, 135-137, 145, 150, 152]
	Myokardinfarkt	[151]
Gastrointestinales System	Übelkeit	[130, 133, 135-137, 146, 152, 153]
	Erbrechen	[126, 130, 133, 135-137, 150, 152, 153]
Sonstige Effekte	Mydriasis	[126, 130, 145]

Nachteilig stellt sich bei diesen Beispielen jedoch dar, dass mit Ausnahme eines Fallbeispiels kein eindeutiger kausaler Zusammenhang zwischen dem klinischen Erscheinungsbild und dem Konsum synthetischer Cannabinoide hergestellt werden konnte. Dies beruht auf der Tatsache, dass entweder kein analytischer Konsumnachweis erbracht wurde^[56, 57, 126-128, 130, 133-139, 141-144, 146-148, 150, 152] oder Nachweismethoden zur Anwendung kamen, die ein unzureichendes Spektrum an synthetischen Cannabinoiden oder deren Metaboliten aufwiesen^[131, 132, 140, 145, 149, 151]. Lediglich *Derungs et al.* konnten im Plasma eines behandlungspflichtigen Patienten das synthetische Cannabinoid MAM-2201 mit einer Konzentration von 49 ng/mL nachweisen und so einen eindeutigen Konsumnachweis erbringen^[126]. Darüber hinaus wurde ebenfalls nur in diesem Fall eine umfassende analytisch-toxikologische Untersuchung des Probenmaterials durchgeführt, um eine mögliche Mischintoxikation durch ggf. zusätzlich aufgenommene Noxen auszuschließen.

Im Zeitraum der praktischen Arbeiten wurden Serumproben von insgesamt 110 Intoxikationsfällen, bei denen ein Konsum synthetischer Cannabinoide als Ursache in Betracht gezogen wurde, analysiert. In 98 dieser Fälle (90 %) konnte mittels Serumanalytik die Aufnahme eines oder mehrerer synthetischer Cannabinoide zweifelsfrei nachgewiesen werden. Um eine toxikologische Beurteilung dieser Substanzgruppe vornehmen zu können, wurden 29 Fälle aus einem Zeitraum zwischen September 2008 und Februar 2011 retrospektiv evaluiert (Alter: 14 – 30 Jahre, Median: 19 Jahre, 25 Männer, 4 Frauen). Als Einschlusskriterien galten (1) Hospitalisierung, (2) das Vorliegen klinischer Unterlagen (anamnestische Daten) sowie (3) der Nachweis der Aufnahme von synthetischen Cannabinoiden mittels Serumanalytik. Sofern genug Probenmaterial vorhanden war, wurden Urinproben zunächst mittels hinweisgebenden Routineverfahren (Immunoassays) sowie massenspektrometrischen Methoden (GC/MS General Unknown Screening^[154] sowie LC/ESI-MS/MS Multi-Target-Screening^[155]) auf zusätzliche Noxen untersucht. Bei Hinweis auf die Aufnahme anderer Drogen (z. B. natürliche Cannabinoide, Stimulanzien) oder therapeutisch verordneter Medikamentenwirkstoffe (z. B. Psychopharmaka) wurden bei noch ausreichender Probenmenge quantitative Bestätigungsanalysen im Serum durchgeführt.

2.6.2.2 Ergebnisse der toxikologischen Analysen

Die detaillierten Ergebnisse der toxikologischen Analysen und die festgestellten klinischen Erscheinungsbilder sind in Tabelle 3 bzw. in Tabelle 4 wiedergegeben. Insgesamt konnten 10 verschiedene synthetische Cannabinoide in den Serumproben nachgewiesen werden, wobei die bereits in Kapitel 2.6.1.1 dieses Abschnittes beschriebene zeitliche Substanzverteilung auffiel. Während JWH-018 vorwiegend in den Fällen aus 2008 und 2009 identifiziert werden konnte, wurden in den Proben aus 2010 hauptsächlich JWH-081 sowie JWH-122 nachgewiesen. JWH-210 konnte hingegen in allen außer einem der Fälle aus dem Jahr 2011 in den zugehörigen Serumproben detektiert werden. Mit geringeren Serumkonzentrationen konnten in Einzelfällen ebenfalls die Substanzen AM-694, JWH-015, JWH-073 sowie JWH-250 nachgewiesen werden. Auf Grund der Tatsache, dass sie stets neben Substanzen vorgefunden wurden, die durch eine höhere CB₁-Affinität charakterisiert sind (siehe Tabelle II im Anhang), wurden sie nicht in Tabelle 4 berücksichtigt. In den Fällen 15, 20 und 22 wies das Ergebnis des immunologischen Vortests auf einen Beikonsum von Amphetamin hin, wobei die Bestätigungsanalyse mittels GC/MS lediglich bei Letztgenanntem

negativ ausfiel. Darüber hinaus konnten in drei Fällen THC und/oder dessen nicht-psychoaktiver Metabolit THC-COOH nachgewiesen werden, wobei die jeweilige THC-Serumkonzentration Werte aufwies, bei der eine aktive Wirkung in Betracht kommt (0,7 und 3,5 ng/mL). Die Aufnahme von Substanzen, die entweder intensivmedizinisch verabreicht (Benzodiazepine, Haloperidol) oder vom Hausarzt verschrieben wurden (Citalopram), konnte ebenfalls analytisch bestätigt werden.

2.6.2.3 Klinisch-symptomatische Erscheinungsbilder und Verläufe

Wahrnehmungsänderungen wie Lichtempfindlichkeit, Verschwommensehen und Halluzinationen (11 Patienten) sowie starke Unruhe (12 Patienten) gehörten neben Angst und Panikattacken (6 Patienten) zu den häufigsten zentralnervösen Symptomen, die klinisch erhoben wurden. Mehr als ein Drittel der Patienten war für einige Stunden somnolent, wobei die Hälfte dieser Patienten sich anfänglich in einer Phase tiefer Bewusstlosigkeit bei intakter Atmung befand. Das häufigste Symptom innerhalb der Population war Tachykardie (22 Patienten) mit Herzfrequenzen von 90 – 170 Schlägen/Minute (Median: 130 Schläge/Minute).

Zur (meist retrospektiven) Beurteilung des Schweregrades akuter Vergiftungszustände wird heutzutage der sogenannte „Poisoning Severity Score“ (PSS) verwendet. Hierbei handelt es sich um eine Standardskala, die einzelne Symptome sowie klinische Zeichen ihrer Schwere entsprechend bewertet (siehe Tabelle IV im Anhang)^[156]. Der Schweregrad einer Vergiftung entspricht letztendlich dem schwerwiegendsten Symptom. Hierbei spricht man von einer leichten Vergiftung, wenn die Symptome oder klinischen Zeichen mild sowie vorübergehend sind und sich spontan auflösen. Bei einer mittelschweren Intoxikation treten betonte oder andauernde Symptome oder klinische Zeichen auf, die meist eine ärztliche Behandlung erforderlich machen. Eine schwere Vergiftung liegt vor, wenn lebensbedrohliche Symptome vorliegen, die einer stationären Behandlung bedürfen. Gemäß des PSS, handelte es sich in 16 Fällen um eine leichte und in 6 Fällen um eine mittelschwere Tachykardie. Mehr als ein Drittel aller Patienten zeigten Hypertonie (systolisch: 150 – 200 mmHg, Median: 160 mmHg; diastolisch: 80 – 100 mmHg, Median: 85 mmHg). Zwei Patienten waren dagegen arteriell hypoton. Übelkeit mit oder ohne Erbrechen war das häufigste auftretende gastrointestinale Symptom (8 Patienten). Eine leichte Hyperglykämie (Blutglucose: > 200 mg/dL) konnte bei

neun Patienten festgestellt werden. Bei acht Patienten wurde eine Hypokaliämie diagnostiziert, die gemäß des PSS bei vier Patienten leicht (Serumkalium: 3,1 – 3,4 mmol/L), in drei Fällen mittelschwer (Serumkalium: 2,8 – 2,9 mmol/L) und in einem Fall schwer (Serumkalium: < 2,3 mmol/L) ausfiel. Die meisten Symptome klangen innerhalb von 4 bis 14 Stunden ab (Median: 7,5 Stunden). Die akute Psychose, die ein Patient nach sechstägigem Konsum synthetischer Cannabinoide entwickelte, dauerte mehrere Tage an. Zwei Patienten litten außerdem einen Tag unter Muskelschmerzen bei erhöhter Creatin-Kinase (CK). Entsprechend der Klassifizierung gemäß des PSS war das klinische Erscheinungsbild lediglich in einem der aufgeführten Fälle als schwer einzuordnen. 17 Patienten zeigten insgesamt ein mittelschweres und 11 Patienten ein leichtes klinisches Erscheinungsbild. Der klinische Verlauf der vier Patienten, die zusätzlich andere Drogen (natürliche Cannabinoide und/oder Amphetamin) aufgenommen hatten, war mit dem Verlauf jener Patienten vergleichbar, die lediglich synthetische Cannabinoide konsumiert hatten. Die Therapiemaßnahmen waren ausschließlich symptombezogen und bestanden meist aus Infusionen, u. a. zur Flüssigkeitszufuhr, Kreislaufstabilisierung oder Kaliumsubstitution. In acht bzw. zwei Fällen konnten erfolgreich Benzodiazepine und Antiemetika eingesetzt werden. Zur Behandlung einer Panikreaktion mit akustischen Halluzinationen wurde in einem Fall Haloperidol verabreicht, wodurch die Symptome innerhalb von einer Stunde abklangen. Ein Patient musste infolge eines generalisierten tonisch-klonischen Krampfanfalls auf Grund einer stark verringerten Atmungsaktivität (Hypopnoe) intubiert und über mehrere Stunden mechanisch beatmet werden.

Tabelle 3 Patientencharakteristika, Latenzzeit zwischen Konsum und Probennahme, Ergebnisse der toxikologischen Analysen, Poisoning Severity Score (PSS^[156], siehe auch Tabelle IV im Anhang), Symptombdauer sowie Therapiemaßnahmen bei den beschriebenen klinischen Notfällen nach Konsum synthetischer Cannabinoide.

Fall Nr.	Alter	Ge- schlecht	Erfahrung mit Cannabinoiden	Latenz- zeit [h]	Nachgewiesene synthetische Cannabinoide	Serum- konzentration [ng/mL]	Immuno- assay ^a (Urin)	Bestätigungs- analyse [ng/mL] (Serum)	Multi Target Screening (Urin)	PSS	Symptom- dauer [h]	Therapie und Medikation
1	16	m	ja	2,7	CP-47,497-C ₈ JWH-018	2,3 < 0,10	(-)	(-)	n. a.	1	6	(s), Beruhigung
2	21	m	ja	3,5	JWH-018	0,45	(-) ¹	THC-COOH (2,2)	n. a.	1	6	(s), Beruhigung
3	18	m	nein	3,0	JWH-018	13	n. a.	n. a.	n. a.	2	7	(s), Beruhigung
4	18	m	nein	5,0	JWH-018	0,38	(-)	n. a.	(-)	2	8	(s), Benzodiazepine
5	17	m	nein	2,8	JWH-081	42	(-) ¹	(-)	(-)	2	ca. 6	(s), Flüssigkeit i. v., Kaliumsubstitution
6	20	w	ja	n. b.	JWH-081 JWH-018 JWH-250	4,0 0,40 0,33	THC	THC (0,7) THC-COOH (38)	Lorazepam ^b , Mirtazapin, Haloperidol ^b	2	> 24	Benzodiazepine, Neuroleptika, psychiatrische Behandlung
7	28	m	nein	10	JWH-122 JWH-250	0,17 0,10	n. a.	n. a.	(-)	1	ca. 14	(s), Beruhigung
8	17	m	n. b.	1,0	JWH-081 JWH-250	3,0 1,1	n. a.	n. a.	(-)	1	6	(s), Beruhigung
9	18	m	ja	1,5	JWH-122 JWH-250 JWH-018	40 0,26 < 0,10	THC, Benzodiazepine	n. a.	n. a.	2	< 12	(s), Benzodiazepine, Kaliumsubstitution
10	19	m	nein	4,0	JWH-081	1,2	(-)	(-)	Citalopram ^b	2	10	(s), Benzodiazepine, Beruhigung
11	17	m	ja	1,0	JWH-018	11	(-)	(-)	(-)	1	8	(s), Beruhigung
12	14	m	nein	1,0	JWH-122	1,7	(-) ¹	(-)	(-)	2	12	(s), Benzodiazepine, Intubation, kurzzeitige Beatmung
13	15	m	nein	1,0	JWH-122	0,29	(-)	(-)	(-)	1	4	(s), Beruhigung, Flüssigkeit i. v.
14	17	w	nein	1,0	JWH-122	0,34	(-) ¹	(-)	(-)	1	< 8	(s), Beruhigung
15	28	m	ja	1,0	JWH-122	15	THC, Metamphetamin, Amphetamine	THC (3,5), Amphetamin (52)	Amphetamin, Methamphetamin, Lorazepam ^b , Midazolam ^b	2	ca. 6	(s), Benzodiazepine
16	19	m	nein	18	JWH-122	0,56	(-)	(-)	(-)	2	< 8	(s)
17	24	m	n. b.	5,0	JWH-210 JWH-073 JWH-015	2,5 0,11 < 0,10	(-)	(-)	(-)	1	> 10	(s)
18	23	m	ja	1,0	JWH-210 JWH-081	3,9 0,25	THC ¹	(-)	(-)	1	6,5	(s), Antiemetika, Haloperidol, Flüssigkeit i. v.

Fall Nr.	Alter	Ge- schlecht	Erfahrung mit Cannabinoiden	Latenz- zeit [h]	Nachgewiesene synthetische Cannabinoide	Serum- konzentration [ng/mL]	Immuno- assay ^a (Urin)	Bestätigungs- analyse [ng/mL] (Serum)	Multi Target Screening (Urin)	PSS	Symptom- dauer [h]	Therapie und Medikation
19	29	m	ja	4,5	JWH-122 AM-694	9,0 0,20	(-) ¹	(-)	Haloperidol ^b	2	6,5	(s), Antiemetika und Haloperidol, Flüssigkeit i. v.
20	23	m	nein [#]	17	JWH-210 JWH-081	7,7 1,8	THC, Amphetamine ¹	Amphetamin (25)	(-)	2	4	(s), Kaliumsubstitution
21	16	w	ja	2,0	JWH-210	5,6	(-)	(-)	(-)	2	6	(s), Beruhigung
22	26	m	n. b.	0,75	JWH-210 JWH-122 JWH-018	190 0,22 0,12	Amphetamine	(-)	(-)	2	< 10	(s), Benzodiazepine, Kaliumsubstitution
23	27	m	n. b.	9,5	JWH-210	68	(-)	(-)	(-)	2	< 12	(s)
24	30	w	ja	n. b.	JWH-210 JWH-081 JWH-122	20 8,4 2,1	(-)	(-)	(-)	1	ca. 12	(s)
25	19	m	n. b.	2,0	JWH-210	0,65	(-)	(-)	(-)	2	< 10	(s), Benzodiazepine, Kaliumsubstitution
26	19	m	n. b.	10	JWH-210	1,0	(-)	(-)	(-)	2	< 12	(s)
27	22	m	n. b.	n. b.	JWH-122	0,27	(-)	(-) ^c	(-)	1	< 10	(s)
28	19	m	nein	1,0	JWH-210	35	(-)	(-)	(-)	2	8	(s)
29	15	w	nein	20	JWH-210	0,20	(-) ¹	(-)	(-)	2	6	(s), Flüssigkeit i. v.

m: männlich, w: weiblich, (-): negativ, (s): symptomatisch, i. v.: intravenös, n. a.: nicht analysiert, n. b.: nicht bekannt

^a Urinproben wurden mittels Immunoassay auf Kokain, natürliche Cannabinoide, Amphetamine, Methamphetamin, Opiate und trizyklische Antidepressiva analysiert

^b unter Therapie verabreichte Substanzen

^c Serumalkoholkonzentration 1,03 g/L

¹ Urin wurde mittels Immunoassay ebenfalls auf Barbiturate analysiert

[#] Patient gab an, synthetische Cannabinoide zum ersten Mal konsumiert zu haben, war jedoch an den Konsum von Cannabis gewöhnt

Tabelle 4 Symptommhäufigkeit nach Intoxikation mit synthetischen Cannabinoiden. Angegeben ist die Anzahl an Patienten mit spezifischen Symptomen nach Konsum. In Fällen, in denen mehr als ein synthetisches Cannabinoid im Serum nachgewiesen werden konnte (Vgl. Tabelle 3), wurden die Symptome jenem mit der höchsten Serumkonzentration zugeordnet.

		CP-47,497-C ₈	JWH-018	JWH-081	JWH-122	JWH-210	Summe	%
		n=1	n=4	n=4	n=9	n=11	n=29	
Nervensystem	starke Unruhe	0	3	3	4	2	12	41
	Wahrnehmungsänderungen/Halluzinationen	0	2	0	4	5	11	38
	Schwindel	0	1	0	3	3	7	24
	Ängstlichkeit/Panikattacke	0	0	2	3	1	6	21
	Somnolenz	1	1	1	1	1	5	17
	Bewusstlosigkeit bis zu 60 Minuten, gefolgt von Somnolenz für mehrere Stunden	0	0	0	0	5	5	17
	Verwirrtheit/Desorientierung	0	0	1	0	3	4	14
	Empfindungslosigkeit/Parästhesie in den Beinen	0	1	0	1	1	3	10
	Anterograde Amnesie	0	0	0	1	1	2	7
	Akute Psychose ^a	0	0	1	0	0	1	3
	Generalisierter Krampfanfall mit hypopnoischer Episode	0	0	0	1	0	1	3
	Aggressives Verhalten	0	0	1	0	0	1	3
	Aphasie, mild	0	0	0	0	1	1	3
	Hitzegefühl	0	0	0	1	0	1	3
	Lachanfälle	0	0	1	0	0	1	3
Neuromuskuläres System	Muskelzucken/Krämpfe	0	0	1	1	0	2	7
	Muskelschmerzen	0	0	1	1	0	2	7
	Myoklonie	0	0	1	0	0	1	3
	Schüttelfrost/Zittern	0	2	2	0	0	4	14
Herz-Kreislauf-System	Tachykardie	0	4	2	8	8	22	76
	Bradykardie	0	0	0	1	0	1	3
	Andere EKG-Veränderungen ^b	0	1	0	1	2	4	14
	Hypertonie	0	2	1	4	3	10	34
	Hypotonie	0	0	0	2	0	2	7
	Synkope	0	0	0	1	0	1	3
	Atemnot	1	0	1	2	2	6	21
	Brustschmerz	0	1	1	1	0	3	10
Gastrointestinales System	Übelkeit/Erbrechen	1	1	1	3	2	8	28
	Trockener Mund/Globusgefühl	0	2	0	1	1	4	14
	Übermäßiger Durst	0	0	0	1	1	2	7
	Diarrhö	0	0	0	1	1	2	7
Augen	Mydriasis	0	3	1	3	4	11	38
	Bindehautrötung	0	3	0	1	0	4	14
Laborwerte	Hypokaliämie	0	1	1	3	3	8	28
	Erhöhte Kreatinkinase	0	0	1	3	0	4	14
	Erhöhte Blutglukose	0	0	1	5	3	9	31

^a Nach sechstägigem Konsum synthetischer Cannabinoide

^b Extrasystolen, ST-Erhöhung, negative T- oder QT-Verlängerung

2.6.2.4 Befundinterpretation und Diskussion

Wie in Tabelle 4 ersichtlich zählen starke Unruhe, Somnolenz, Halluzinationen, Angst, Tachykardie, Hypertonie, Übelkeit und/oder Erbrechen, Mydriasis sowie Hypokaliämie zu den häufigsten Symptomen, die in der betrachteten Patientenpopulation nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden beobachtet wurden. Der Großteil dieser Symptome ähnelt weitgehend einer Intoxikation nach Cannabiskonsum. So wurden vor allem nach Konsum hoher THC-Mengen Euphorie, Schwindel und Somnolenz, Angst, Paranoia, Halluzinationen, Panikattacken sowie Depersonalisierung und die Beeinträchtigung kognitiver Fähigkeiten wie Lernen und Gedächtnis beobachtet^[157-165]. Zu typischen kardiovaskulären Effekten nach einer Cannabisintoxikation zählen weiterhin vor allem Tachykardie sowie das Auftreten von Blutdruckregulationsstörungen (z. B. orthostatische Hypotension)^[159, 163-166]. Koma^[167-172] sowie Ataxie^[173, 174] wurden ebenfalls, wenn auch lediglich bei Kleinkindern, beschrieben. Somit erscheinen die in der betrachteten Population besonders häufig aufgetretenen Symptome wie Erbrechen, (generalisierte) Krampfanfälle, starke Unruhe sowie Hypokaliämie eher spezifisch für eine Intoxikation mit synthetischen Cannabinoiden zu sein. Diese zum Teil schweren Symptome sind besonders besorgniserregend und treten im Allgemeinen auch nach starkem Cannabiskonsum nicht auf, wofür zahlreiche Ursachen in Betracht kommen:

Allgemeine Pharmakologie: THC ist lediglich ein partieller Agonist am CB₁-Rezeptor^[7, 175-178], wodurch Dosissteigerungen nach Erreichen der maximalen THC-Wirkung zu keiner relevanten Wirkungsverstärkung mehr führen (Ceiling-Effekt). Demgegenüber ist der Großteil der bisher in Räuchermischungen identifizierten und in den Blutproben der intoxikierten Patienten nachgewiesenen Cannabimimetika im Vergleich zu THC durch eine zum Teil deutlich höhere Affinität zum CB₁-Rezeptor charakterisiert (siehe Tabelle II im Anhang). Obwohl hierdurch nicht automatisch für alle identifizierten Substanzen auf eine höhere Potenz geschlossen werden kann, wurde für einzelne Cannabimimetika in *in vitro* Aktivitätsassays bereits eine vollagonistische Wirkung am CB₁-Rezeptor nachgewiesen (z. B. CP-47,497-C₈^[179], JWH-018^[81, 175, 176, 180], JWH-073^[179, 181], JWH-251^[37, 180], UR-144^[182] und XLR-11^[182]). Eine im Vergleich zu THC stärkere maximale Wirkung einer Vielzahl von synthetischen Cannabinoiden wurde ebenfalls durch zahlreiche *in vivo* Studien belegt^[26, 34, 68, 81, 175, 176, 180, 181, 183-187]. Diese Zusammenhänge spiegeln sich auch in den dargestellten Intoxikationsfällen wider. So konnten in den Serumproben der jüngeren und gleichzeitig symptomatisch meist schwereren Vergiftungsfälle vorwiegend die hochpotenten Substanzen

JWH-122 sowie JWH-210 nachgewiesen werden (Tabelle 3, Fälle 12 bis 29). Dagegen konnten ältere Fälle einerseits auf den Konsum des – im Vergleich zu JWH-122 und JWH-210 – weniger potenten JWH-018 zurückgeführt werden und wiesen andererseits allgemein mildere Symptome auf (Tabelle 3, Fälle 1 bis 4). Es erscheint somit als sehr wahrscheinlich, dass die höhere Wirkstärke der synthetischen Cannabinoide ein Grund für die verhältnismäßig schwereren Vergiftungserscheinungen ist. Abseits von CB₁-Bindungsaffinitäten und intrinsischer Aktivität existieren ferner Hinweise auf die Existenz weiterer Cannabinoid-Rezeptorsubtypen, weshalb weitere, bis heute nicht identifizierte Wirkmechanismen synthetischer Cannabinoide als mögliche Ursache für die ersten Symptome in Betracht kommen^[188, 189].

Produkteigenschaften: Wie bereits beschrieben, änderte sich das Substanzspektrum, das in Räuchermischungen seit dem Jahr 2008 nachgewiesen werden konnte, dynamisch. So traten vor allem seit 2010 in kurzer Abfolge zunehmend potentere Wirkstoffe in den Produkten auf (Vgl. Kapitel 1.4 in diesem Abschnitt). Darüber hinaus wurden mehrfach sowohl wechselnde Substanzen^[86, 89, 190-193] und Substanzgehalte in gleichnamigen Produkten^[191] als auch erhebliche Inhomogenitäten beschrieben. So berichteten *Logan et al.* nach Analyse mehrerer Stichproben aus derselben Räuchermischung stark variierende Ergebnisse. Während sie in manchen Proben keine Cannabimimetika nachweisen konnten, enthielten Proben aus anderen Arealen des Tütchens einen Gehalt von bis zu 6,5 % (m/m) der Wirksubstanz^[190]. Teilweise enthalten Produkte bis zu acht verschiedene synthetische Cannabinoide^[191], während unlängst in homogenisierten Räuchermischungen Substanzgehalte von 0,003 (und weniger) bis zu 30,3 % (m/m) festgestellt wurden^[190, 194]. Diese enormen Schwankungen machen es für Konsumenten unmöglich, die Wirkstärke eines bestimmten Produktes einzuschätzen, so dass vor allem für Erstkonsumenten eine besonders hohe Gefahr für Überdosierungen besteht. Diese besteht bei Cannabiskonsumenten demgegenüber in vergleichsweise deutlich geringerem Ausmaß. Zwar stieg der weltweite mittlere THC-Gehalt in Cannabiszubereitungen innerhalb der letzten vier Dekaden kontinuierlich auf in etwa das Siebenfache an^[195, 196]. Doch sind markt- und produktbedingte Schwankungen des THC-Gehaltes innerhalb von Cannabiszubereitungen erheblich geringer als dies bei Räuchermischungen der Fall ist^[197].

Metabolismus: Der hepatische Phase-I-Metabolismus von THC und der synthetischen Cannabinoide vom Alkylindol-Typ unterscheidet sich erheblich. THC wird zunächst

überwiegend zu 11-OH-THC verstoffwechselt. Dieser ebenfalls psychoaktive Hauptmetabolit wird anschließend erneut oxidiert, wodurch der nicht-psychoaktive Metabolit THC-COOH entsteht^[198]. Während im Rahmen des Phase-I-Abbaus von THC somit lediglich ein psychoaktiver Metabolit in wirkrelevanten Serumkonzentrationen gebildet wird, werden Alkylindole zu einer Vielzahl verschiedener Hauptmetaboliten verstoffwechselt. Darunter befinden sich im Wesentlichen an der aliphatischen Seitenkette, am Indol- oder, je nach aromatischem Substituenten des Carbonylkohlenstoffs, am Naphthyl-, Benzoyl- oder Phenylacetylsubstituenten monohydroxylierte Metabolite. Mehrfach hydroxylierte sowie am Substituenten des Indolstickstoffes carboxylierte Metabolite werden ebenfalls gebildet^[199-214]. An der terminalen Position der Alkylkette fluoridierte (z. B. AM-2201^[215-217], AM-694^[209] und XLR-11^[182]) oder aliphatisch substituierte Cannabimimetika (z. B. AB-001^[218], AKB48^[219] UR-144^[182, 215]) werden in ähnlicher Weise komplex biotransformiert. Der Umstand, dass zahlreiche der Metaboliten nicht nur mit zum Teil hoher Affinität an CB-Rezeptoren binden sondern an ihnen ebenfalls als Agonisten, Partialagonisten, neutrale Antagonisten oder inverse Agonisten wirken^[176, 177, 181], führt zu einer überaus komplexen Pharmakodynamik, die ebenfalls als Ursache für die vergleichsweise häufigeren und schwereren Vergiftungssymptome in Frage kommt. Darüber hinaus muss ebenso eine Giftung im Rahmen des Metabolismus der Alkylindole in Betracht gezogen werden, da in *in vitro* Experimenten mittels Lebermikrosomen für zahlreiche Alkylindole Metabolite mit Diolstruktur identifiziert wurden^[199-201, 212, 215]. Obgleich die Entstehung dieser Metabolite *in vivo* nur von untergeordneter Bedeutung ist^[215], verläuft ihre Bildung mit hoher Wahrscheinlichkeit über reaktive und somit potentiell genotoxische Epoxidintermediate.

Toleranzentwicklung: Die fortwährende Aktivierung von CB₁-Rezeptoren durch Agonisten wie THC oder potente synthetische Cannabinoide (z. B. CP-55,940, WIN 55,212-2 oder HU-210) führt zur Toleranzentwicklung^[220-224] in Form einer schrittweisen Abnahme der Rezeptordichte (Internalisierung^[223, 225]) sowie einer Verringerung der Rezeptorantwort (Desensibilisierung^[226]). Dies demonstrierten *Atwood et al.* für die Substanzen CP-47,497-C₈, JWH-018 sowie JWH-073 anhand einer schnellen und umfassenden Internalisierung von CB₁-Rezeptoren *in vitro*^[175, 179]. Somit gilt eine Toleranzentwicklung infolge eines regelmäßigen Konsums synthetischer Cannabinoide als sehr wahrscheinlich. Hierauf reagiert der Konsument im Allgemeinen mit einer Steigerung der Dosis, was wiederum mit einer erhöhten Gefahr für Überdosierungen einhergeht. Interessanterweise zeigten Studien mit

Rhesusaffen allerdings, dass bei CB₁-Agonisten ein inverser Zusammenhang zwischen intrinsischer Aktivität und Ausmaß der Toleranzentwicklung zu bestehen scheint. So entwickelten die Versuchstiere, nachdem sie über zwei Wochen regelmäßige THC-Injektionen erhalten hatten, eine deutlich geringere Kreuztoleranz auf die stärker wirksamen synthetischen Cannabinoide CP-55,940, JWH-018 und JWH-073^[221, 222]. Dies deutet somit darauf hin, dass Cannabiskonsumern mit ausgeprägter THC-Toleranz ebenfalls besonders empfindlich auf die Wirkung von synthetischen Cannabinoiden reagieren könnten. Demnach scheint die Anfälligkeit für Intoxikationen mit diesen Substanzen auch bei einer vorhandenen THC-Toleranz nicht bedeutend reduziert zu sein.

Zytotoxizität: Zytotoxische Effekte von THC *in vitro* über sowohl CB-Rezeptor abhängige (in kortikalen Nervenzellen)^[227] als auch unabhängige (in Leukämiezellen)^[228] Mechanismen wurden in mehreren Arbeiten beschrieben. Im Fall von CP-47,497 und dessen C₈-Homologem berichteten *Tomiyama et al.* von einer über den CB₁-Rezeptor vermittelten, konzentrationsabhängigen Zytotoxizität in Neuroblastomzellen^[229]. *Koller et al.* führten umfangreiche Studien mit AM-694, JWH-018, JWH-073, JWH-122, JWH-210 sowie THC in humanen Zelllinien und Primärzellen durch, um deren zytotoxischen, genotoxischen, immunmodulatorischen sowie hormonellen Effekte zu untersuchen. In ihren Untersuchungen führten alle betrachteten Substanzen zu Zellmembranschäden und antiöstrogenen Effekten sowie vereinzelt zu DNA-Migration und Suppression der Cytokinexpression. Alle zytotoxischen Effekte traten jedoch erst bei Konzentrationen auf, die deutlich oberhalb zu erwartender Serumkonzentrationen nach Konsum dieser Substanzen liegen ($\geq 75 \mu\text{M}$). Gleichwohl kommen bestimmte Epithelien im Zuge eines inhalativen Konsums mit solch hohen Konzentrationen in Kontakt (z. B. Mundschleimhaut oder Bronchialgewebe), so dass hierbei lokale zytotoxische Effekte nicht ausgeschlossen werden können.

Spezifische Symptome, Erbrechen: Erbrechen gepaart mit somnolenten oder komatösen Zuständen birgt Erstickengefahr auf Grund von Aspiration erbrochenen Mageninhaltes. THC wirkt zwar eher antiemetisch und wird deshalb medizinisch bei Chemotherapie-bedingten Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen eingesetzt^[230]. In den letzten Jahren wurde allerdings ebenfalls häufiges und wiederholtes Erbrechen nach dem Konsum von Cannabisprodukten beschrieben. Dieses paradoxe, allgemein als Cannabis-

Hyperemesis-Syndrom bezeichnete Erscheinungsbild wurde jedoch ausschließlich nach chronischem Cannabiskonsum festgestellt^[231-239].

Spezifische Symptome, Krampfanfälle: In der wissenschaftlichen Literatur wird ein antikonvulsiver Effekt für Cannabis bzw. CB₁-Agonisten kontrovers diskutiert. So wurde dem Konsum von Cannabisprodukten sowohl anti-^[240] als auch prokonvulsive^[241] Effekte zugeschrieben. *Mortati et al.* berichteten den Fall eines 45-jährigen Epilepsiekranken, bei dem eine Besserung der Symptome durch den Konsum von Cannabis auftrat^[242]. Eine positive Wirkung von Cannabis auf Epilepsie schlussfolgerten ebenfalls *Hedge et al.* in ihrem Fallbericht über zwei Patienten, deren fokale Epilepsie bei regelmäßigem Cannabiskonsum stabil war, sich die Anfallshäufigkeit jedoch bei beginnender Cannabisabstinenz dramatisch erhöhte^[243]. Jüngst wurde für CB₁-Agonisten (z. B. WIN 55,212-2) ein antikonvulsiver Effekt in Tiermodellen beschrieben^[244, 245]. Das ebenfalls in Cannabisprodukten präsente Phytocannabinoid Cannabidiol (CBD) reduzierte ebenfalls Ausmaß und Häufigkeit induzierter epileptischer Anfälle in Mäusen^[246]. Zwar konnten antikonvulsive Effekte des CBD noch nicht durch valide klinische Humanstudien bestätigt werden^[247]. Dennoch muss in Betracht gezogen werden, dass das häufige Auftreten krampfartiger Anfälle nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden darauf beruht, dass eventuell antikonvulsiv wirkende Phytocannabinoide in Räuchermischungen nicht enthalten sind.

Spezifische Symptome, Psychosen: Auch wenn valide Erhebungen, die einen Vergleich zulassen würden, bisher fehlen, scheinen Cannabiskonsumern im Vergleich zu Konsumenten synthetischer Cannabinoide seltener psychotische Episoden zu erleiden. Ein kausaler Zusammenhang zwischen der Entwicklung von psychotischen Zuständen und dem Konsum von Cannabisprodukten gilt in der Literatur jedoch mittlerweile als akzeptiert und gefestigt. So gelten ein häufiger Konsum hoher Cannabisdosen und/oder eine entsprechende psychische Prädisposition der Betroffenen als bedeutende Risikofaktoren für das Neu- oder Wiederauftreten psychischer Störungen^[248-252]. Angesichts dieser Zusammenhänge ist das Auftreten einer Panikattacke bei einem prädisponierten Patienten^[138] sowie rezidivierender Psychosen^[57, 127, 143] nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden wenig überraschend. Stattdessen gibt die bereits hohe Anzahl an Fallserien über psychisch zunächst gesunde Patienten, deren Konsum von synthetischen Cannabinoiden zu einer Induktion teils lang anhaltender Psychosen führte, Anlass zur Besorgnis^[128, 129, 139-141, 253]. Die Abwesenheit des ebenfalls als antipsychotisch geltenden CBD^[251, 254, 255] in Räuchermischungen muss auch in

diesem Fall als mögliche Ursache für das häufigere Auftreten von psychotischen Zuständen nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden berücksichtigt werden.

Spezifische Symptome, Hypokaliämie: Eine Hypokaliämie erhöht die Gefahr für Herzrhythmusstörungen und kann neuromuskuläre Symptome wie Muskelschmerzen, Muskelschwäche oder Atemdepression hervorrufen. Während Hypokaliämien untypisch für eine Cannabisintoxikation sind, trat dieses Symptom in der untersuchten Population jedoch bei in etwa einem Drittel aller Patienten auf. Hierfür kommen starkes Schwitzen, Durchfall, eine erhöhte renale Kaliumausscheidung oder ein verstärkter Kaliumtransport in das Zellinnere in Frage. Während starkes Schwitzen und Durchfall ausgeschlossen werden konnten und keine Hinweise für eine verstärkte renale Kaliumausscheidung vorlagen, kommen stark erhöhte intrazelluläre Kaliumkonzentrationen in Betracht. Die endgültige Ursache für dieses Symptom und ob tatsächlich ein kausaler Zusammenhang mit dem Konsum von synthetischen Cannabinoiden besteht, bleibt jedoch unklar.

Wie in Tabelle 2 ersichtlich, wurden zahlreiche der in der evaluierten Patientenpopulation beobachteten Vergiftungssymptome ebenfalls in Einzelfällen oder kleineren Fallserien beschrieben. Über diese besonders markanten Symptome hinaus wurden desweiteren Myokardinfarkte^[142, 151], akutes Nierenversagen^[152, 153, 256], Lungeninfiltrate^[257] sowie Rhabdomyolyse^[253] in Zusammenhang mit einem (teils chronischen) Konsum von Räuchermischungen gebracht. Während kardiovaskuläre Ereignisse wie Myokardinfarkte oder Schlaganfälle ebenfalls nach chronischem Cannabiskonsum beobachtet wurden^[164, 258, 259], ist vor allem der Bericht über 16 Patienten, bei denen nach Konsum von Räuchermischungen akutes Nierenversagen diagnostiziert wurde, bemerkenswert, da für insgesamt 7 dieser Patienten der Konsum des neuartigen, cyclopropyl-substituierten Alkylindols XLR-11 durch Blut- und/oder Urinanalytik nachgewiesen werden konnte. In den Serumproben zweier Patienten wurden hierbei u. a. XLR-11-Konzentrationen von 33 bzw. 35 ng/mL festgestellt^[256]. Berücksichtigt man, dass Räuchermischungen in der Regel durch Rauchen konsumiert werden und der Cyclopropylring von XLR-11 durch die hierbei auftretenden hohen Temperaturen beinahe vollständig in eine offenkettige, ungesättigte Form isomerisiert^[88], muss somit von noch deutlich höheren Konzentrationen des entstandenen Isomers ausgegangen werden. Da sowohl für die Muttersubstanz (XLR-11) als auch für dessen Isomer weder *in vitro*- noch *in vivo*-Daten zur

Toxizität vorliegen, kommt anhand dieser Zusammenhänge bei einem Konsum von XLR-11 eine akute Gesundheitsgefährdung in Betracht.

Während die obigen Ausführungen lediglich die akute Toxikologie der Substanzen betrachten, existieren derzeit keine Daten über die langfristigen Folgen des Konsums von Räuchermischungen. Unter Berücksichtigung der hohen Lipophilie der meisten identifizierten Cannabimimetika und der hierdurch zu erwartenden Umverteilung in tiefe Kompartimente (vorwiegend fettreiche Gewebe), führt ein regelmäßiger Konsum jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer prolongierten Verweildauer dieser Substanzen im Organismus und somit zu unabsehbaren Langzeiteffekten.

2.6.2.5 Schlussfolgerungen

Zusammengefasst ist deutlich zu erkennen, dass der Konsum synthetischer Cannabinoide zu lebensbedrohlichen Zuständen führen kann, wobei die Ursachen hierfür noch nicht im Einzelnen mechanistisch geklärt sind. Obwohl die Darstellungen und Ergebnisse lediglich auf einer retrospektiven Auswertung einer geringen Patientenzahl basieren, muss in Zusammenschau mit den zahlreichen in der Literatur beschriebenen Fallbeispielen davon ausgegangen werden, dass mit dem Konsum von synthetischen Cannabinoiden - verglichen mit dem Konsum von Cannabis - eine deutlich höhere Gesundheitsgefahr einhergeht. Weitere Indizien hierfür sind nicht zuletzt jüngst berichtete Todesfälle, bei denen der Konsum von synthetischen Cannabinoiden auf Grund fehlender exogener oder endogener Hinweise auf eine andere Todesart als todesursächlich gewertet wurde^[59, 260].

2.6.3 Straßenverkehrsdelikte

2.6.3.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Entsprechend der gegenwärtigen deutschen Gesetzgebung ist das Führen eines Kraftfahrzeugs unter dem Einfluss gängiger berauschender Mittel (z. B. Alkohol, Cannabis, Opiate, Amphetamin oder Cocain) ein Rechtsverstoß, der je nach Tatbestand auf unterschiedliche Weise geahndet wird. So handelt gemäß §24a Straßenverkehrsgesetz (StVG) beispielsweise derjenige ordnungswidrig, der unter der Wirkung von THC ein Kraftfahrzeug

führt ohne dass eine relative Fahruntüchtigkeit vorliegt (z. B. Fahrfehler oder Ausfallerscheinungen)^[261]. Während laut §24a StVG der alleinige Nachweis von THC im Blut der Fahrzeug führenden Person für die Erfüllung dieses Tatbestandes ausreicht, empfiehlt die Grenzwertkommission mit ihrem Beschluss zu §24a StVG vom 20.11.2002 erst ab einem THC-Grenzwert von 1,0 ng/mL (Serumkonzentration)^[262] von der Erfüllung des Tatbestandes auszugehen. Verstöße, bei denen zusätzlich zum Einfluss der in der Anlage zu §24a StVG aufgeführten Substanzen¹⁰ entweder eine relative Fahruntüchtigkeit (§316 Strafgesetzbuch, StGB, Rausch im Verkehr)^[263] oder eine Gefährdung von Leib oder Leben eines anderen Menschen oder fremder Sachen von bedeutendem Wert (§315c StGB, Gefährdung des Straßenverkehrs durch die Einnahme berauschender Mittel)^[264] vorliegen, erfüllen dagegen den Tatbestand einer Straftat.

Im Gegensatz zu THC werden synthetische Cannabinoide nicht von der geltenden Rechtsvorschrift des §24a StVG berücksichtigt, weshalb sie von gängigen Nachweisverfahren, die bei Straßenverkehrsdelikten zur Anwendung kommen, auch nicht erfasst werden. Hieraus ergibt sich für Drogenkonsumenten ein wesentliches Motiv Räuchermischungen zu konsumieren. Insbesondere für Cannabiskonsumenten ergibt sich hierdurch die Möglichkeit ihren Cannabiskonsum mit Räuchermischungen zu substituieren und somit Drogenscreenings, beispielsweise im Rahmen von Abstinenz- oder Straßenverkehrskontrollen, zu unterwandern^[55-58, 60-62]. Berücksichtigt man die Ausführungen des vorangegangenen Kapitels, so muss nach Konsum von synthetischen Cannabinoiden - analog zu THC – jedoch mit Symptomen gerechnet werden, die mit einem sicheren Führen eines Kraftfahrzeugs nicht vereinbar sind. Dies soll an den folgenden drei Fallbeispielen verdeutlicht werden, bei denen die Beschuldigten jeweils für einen Cannabiskonsum typische Auffälligkeiten zeigten, in den zugehörigen Blutproben jedoch keine der in der Anlage zu §24a StVG aufgeführten Substanzen nachgewiesen werden konnte.

2.6.3.2 Fallbeispiel 3

Ein 20-jähriger, männlicher Autofahrer wurde im Rahmen einer allgemeinen Verkehrskontrolle überprüft, wobei die Beamten Gleichgewichtsstörungen, eine gestörte

¹⁰ Aufgeführt sind die Substanzen THC, Morphin, Heroin, Cocain, Amphetamin, Methylenedioxyamphetamin, Methylenedioxyethylamphetamin, Methylenedioxymetamphetamin und Methamphetamin.

Feinmotorik, vergrößerte Pupillen sowie eine stumpfe Gemütslage feststellten. Bei der ca. 80 Minuten später folgenden Blutabnahme vermerkte der diensthabende Arzt zusätzlich einen unsicheren Finger-zu-Finger-Versuch sowie eine verzögerte Pupillenreaktion auf Lichtreize. Die Blutprobe wurde anschließend auf synthetische Cannabinoide analysiert. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5 Ergebnisse der Serumanalytik für Fallbeispiel 3.

Nachgewiesener Analyt	Serumkonzentration [ng/mL]
JWH-122	7,6*
JWH-210	4,4*
JWH-019	1,7
AM-2201	0,31

* Wert lag oberhalb des höchsten Kalibrators und wurde extrapoliert.

2.6.3.3 Fallbeispiel 4

Ein 29 Jahre alter, männlicher Kraftfahrer wurde für eine allgemeine Verkehrskontrolle angehalten. Während der Überprüfung fanden die Beamten im Fahrzeug Räuchermischungen des Typs „BooM“ sowie „OMG“. Die daraufhin veranlasste Blutabnahme erfolgte ca. 50 Minuten später, wobei der diensthabende Arzt Schwindelgefühl, vergrößerte Pupillen, eine verzögerte Pupillenreaktion auf Lichtreize sowie ein verzögertes Verhalten festhielt. Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse nach Analyse der Blutprobe.

Tabelle 6 Ergebnisse der Serumanalytik für Fallbeispiel 4.

Nachgewiesener Analyt	Serumkonzentration [ng/mL]
JWH-210	6,2*
JWH-122	1,0

* Wert lag oberhalb des höchsten Kalibrators und wurde extrapoliert.

2.6.3.4 Fallbeispiel 5

Ein 22-jähriger, männlicher Autofahrer sollte im Rahmen einer allgemeinen Verkehrskontrolle überprüft werden, flüchtete allerdings und überfuhr dabei zunächst mehrere rote Ampeln. Nach seiner Festnahme protokollierten die Polizeibeamten ein teilnahmsloses und nervöses Verhalten, verlangsamte Bewegungsabläufe sowie eine träge und verzögerte Pupillenreaktion auf Lichtreize. Während der eineinhalb Stunden später erfolgten Blutabnahme wurden vom diensthabenden Arzt keine Auffälligkeiten festgestellt.

Tabelle 7 führt die in der Blutprobe nachgewiesenen synthetischen Cannabinoide auf.

Tabelle 7 Ergebnisse der Serumanalytik für Fallbeispiel 5.

Nachgewiesener Analyt	Serumkonzentration [ng/mL]
JWH-122	28*
JWH-210	2,5*
JWH-018	1,9
AM-2201	< 0,10
JWH-307	< 0,10
MAM-2201	< 0,10
UR-144	< 0,10

* Wert lag oberhalb des höchsten Kalibrators und wurde extrapoliert.

2.6.3.5 Schlussfolgerungen

Die oben beschriebenen Ausfallerscheinungen zeigen eindrücklich, dass der Konsum von Räuchermischungen zu Symptomen führen kann, die mit dem sicheren Führen eines Kraftfahrzeugs nicht vereinbar sind. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, dass der Konsum von synthetischen Cannabinoiden im Rahmen von Straßenverkehrsdelikten vor allem dann in Betracht gezogen werden muss, wenn Hinweise auf einen Cannabiskonsum vorliegen (z. B. gerötete Konjunktiven, träge Pupillenreaktion, gestörtes Gleichgewicht oder gestörte Motorik), THC jedoch in der zugehörigen Blutprobe nicht oder nur unterhalb des Grenzwertes von 1,0 ng/mL bestimmbar ist. Unter Berücksichtigung der deutlich höheren Wirksamkeit der meisten bisher in Räuchermischungen nachgewiesenen synthetischen Cannabinoide, muss auch von einer Beeinträchtigung der Fahrtüchtigkeit bei Serumkonzentrationen deutlich unterhalb des THC-Grenzwertes ausgegangen werden. Institutionen, die Blutproben von Verkehrsdelikten analysieren, sollten somit über Verfahren zum Nachweis von synthetischen Cannabinoiden verfügen, um im Bedarfsfall gezielt auf diese Substanzen testen zu können. Wie bereits in Kapitel 2.6.1.1 dieses Abschnittes gezeigt, müssen jene Verfahren nicht nur über eine ausreichende Empfindlichkeit verfügen (Nachweisgrenzen deutlich < 1,0 ng/mL), sondern ebenso regelmäßig an die gegenwärtige Substanzsituation angepasst werden. Nur so kann eine verstärkte Aufklärung von Straßenverkehrsdelikten gewährleistet werden.

2.6.4 Untersuchungen zur Langzeitnachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben

2.6.4.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Die gutachterliche Beurteilung von Serumkonzentrationen verschiedener Drogen- oder Medikamentenwirkstoffe gehört zur täglichen Fallarbeit in der forensischen Toxikologie. So muss beispielsweise bei Straßenverkehrsdelikten, bei denen die bereits beschriebenen Rechtsvorschriften §315c oder §316 StGB berührt werden, eine wirkungsbedingte Fahruntüchtigkeit in jedem Einzelfall gesondert festgestellt werden, insofern ein positiver Nachweis eines berauschenden Mittels in der Blutprobe des Angeklagten vorliegt (Ausnahme: Trunkenheit im Verkehr). Substanzen, die auf Grund ihrer hohen Lipophilie ein großes Verteilungsvolumen aufweisen, sind bei diesen Betrachtungen von besonderer Bedeutung. Es ist bekannt, dass THC umfangreich in tiefe Kompartimente verteilt wird und dort akkumuliert^[265, 266], wodurch sich vor allem bei Dauerkonsumenten auf Grund der Aufnahme regelmäßiger Dosen ein Depot aufbaut, aus dem die Substanz nur langsam ins Blut rückverteilt wird. Daraus resultierend kann THC selbst nach Beginn der Cannabisabstinenz noch über mehrere Tage im Serum nachgewiesen werden^[267-270]. In Fällen, bei denen der Straftatbestand nach §315c oder §316 StGB erfüllt ist und ein positiver THC-Nachweis im Serum erbracht wurde, ergibt sich somit die Fragestellung, ob die festgestellte THC-Konzentration auch wirklich eine akute, für den Tathergang relevante Wirkung hervorrief.

Doch auch im Fall der Unterbringung in einem psychiatrischen Krankenhaus (§63 StGB)^[271] oder in einer Entzugsanstalt (§64 StGB)^[272] kommt der Bewertung von Serumkonzentrationen eine besondere Bedeutung zu. Dies ist insbesondere der Fall, wenn die Frage eines wiederholten Konsums beantwortet werden muss. Während in solchen Einrichtungen routinemäßig auf die Abstinenz von gängigen Drogen wie Alkohol, Cannabis, Amphetamin oder Opiaten getestet wird, können die hierfür angewendeten immunchemischen Screeningverfahren ein Ausweichen auf neuartige Drogen wie beispielsweise synthetische Cannabinoide nicht anzeigen. Wird ein solcher Konsum jedoch mittels eines spezifischen und hochempfindlichen Analysenverfahrens bewiesen (z. B. mit LC/MS/MS), gilt zu entscheiden, ob die Therapie des Konsumenten wegen Verstoßes gegen die Auflagen der Unterbringung abgebrochen und er in den geschlossenen Vollzug übergeben wird. Wird die Therapie stattdessen unter Einräumung einer weiteren

Bewährungsmöglichkeit fortgeführt, ist der regelmäßige Ausschluss eines Nachkonsums unerlässlich für eine erfolgreiche Behandlung.

Auf Grund der Tatsache, dass der Großteil der bisher in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoide durch eine ähnlich hohe Lipophilie wie THC gekennzeichnet ist (z. B. JWH-122 und JWH-210), galt es zu untersuchen, ob die Gesetzmäßigkeiten einer prolongierten Nachweisbarkeit ebenfalls für diese Substanzen zutreffen. Während im Falle von THC zur Klärung dieser Fragestellung verschiedene Humanstudien durchgeführt wurden^[267-269, 273], kommen solche für synthetische Cannabinoide unter ethischen Gesichtspunkten auf Grund der potentiellen Gesundheitsgefährdung nicht in Betracht. Deshalb musste im Rahmen der Arbeit auf authentische Proben aus der täglichen Fallarbeit sowie auf Expositionsversuche zurückgegriffen werden, um essentielle Kenntnisse über die Langzeitnachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben zu erhalten.

2.6.4.2 Fallbeispiele 6 und 7

Zwei männliche Patienten entwickelten infolge eines eigens berichteten, mehrtägigen Konsums einer Räuchermischung eine schwere Psychose (Alter: 21 bzw. 23 Jahre). Beide Patienten wurden daraufhin zunächst hospitalisiert und für 6 bzw. 12 Tage unter strenger Überwachung stationär bis zu ihrer Entlassung behandelt, wobei über den jeweiligen Behandlungszeitraum regelmäßig Serumproben zur Analyse abgenommen wurden. In Abbildung 26 sind die Serumkonzentrationskurven beider Patienten dargestellt.

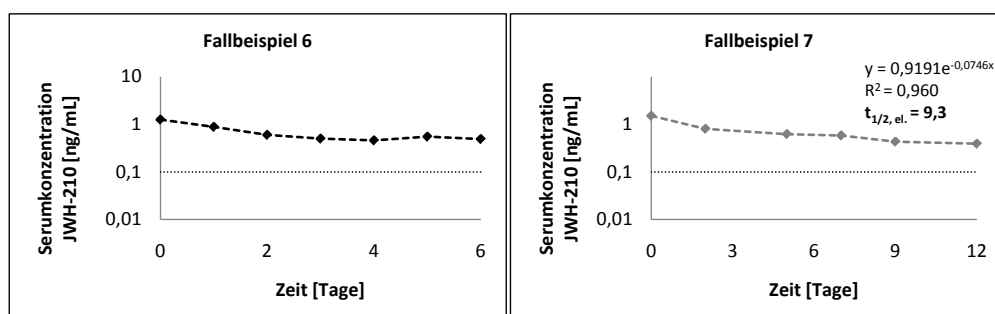


Abbildung 26 Serumkonzentrationskurven der Fallbeispiele 6 und 7. Die gepunktete Linie kennzeichnet jeweils das LLOQ der Quantifizierungsmethode (0,10 ng/mL). Der Zeitpunkt des ersten Messpunktes korreliert nicht mit dem Zeitpunkt der Substanzaufnahme. Die Berechnung der terminalen Eliminationshalbwertszeit erfolgte für Fallbeispiel 7 unter Einbeziehung aller Messpunkte mit Ausnahme des initialen Messwertes.

Es ist deutlich zu erkennen, dass die konsumierte Substanz JWH-210 über den gesamten Untersuchungszeitraum nachgewiesen werden konnte, obwohl ein erneuter Konsum ausgeschlossen war. Auffällig ist ebenfalls, dass die Serumkonzentration beim Fallbeispiel 6 ab Tag 3 nicht mehr kontinuierlich sank, sondern sich stattdessen eine Plateauphase entwickelte, in der die Konzentrationen um einen Wert von ca. 0,50 ng/mL schwankten. Hier scheint es, dass die Rückverteilungs- den Eliminationsprozessen noch überwiegen, wodurch sehr wahrscheinlich ist, dass JWH-210 auch noch über einen deutlich längeren Zeitraum nach Ende des stationären Aufenthaltes hätte nachgewiesen werden können. Im zweiten Beispiel ist hingegen ein langsamer und stetiger Rückgang der Serumkonzentration während des zwölf-tägigen Untersuchungszeitraumes zu erkennen. Setzt man voraus, dass zum Zeitpunkt der zweiten Probe keine Umverteilung der Substanz mehr stattfindet und die Elimination den Rückverteilungsprozessen überwiegt, kann mittels exponentieller Regression die Zerfallskonstante λ ermittelt und anhand der folgenden mathematischen Beziehung die terminale Eliminationshalbwertszeit abgeschätzt werden.

Formel 1 Berechnung der Eliminationshalbwertszeit.

$$t_{1/2, \text{el.}} = \frac{\ln 2}{\lambda}$$

So ergibt sich im Falle des Fallbeispiels 7 eine abgeschätzte terminale Eliminationshalbwertszeit von ca. 9,3 Tagen ($R^2 = 0,960$).

2.6.4.3 Fallbeispiele 8 bis 13

Wie bereits dargestellt, wurden im Rahmen der täglichen Fallarbeit mehr als 3300 Serumproben auf synthetische Cannabinoide untersucht. Zahlreiche dieser Proben stammten hierbei von Straffälligen, die nach §63 oder §64 StGB in Therapieeinrichtungen zur Behandlung ihrer Drogensucht untergebracht waren. Abbildung 27 zeigt Serumkonzentrationsverläufe von Konsumenten, bei denen nach erstmalig erbrachtem Konsumnachweis und anschließender Verschärfung der Haftbedingungen (z. B. kein Ausgang, Einzelunterbringung) Folgeproben zur weiteren Abstinenzkontrolle analysiert wurden.

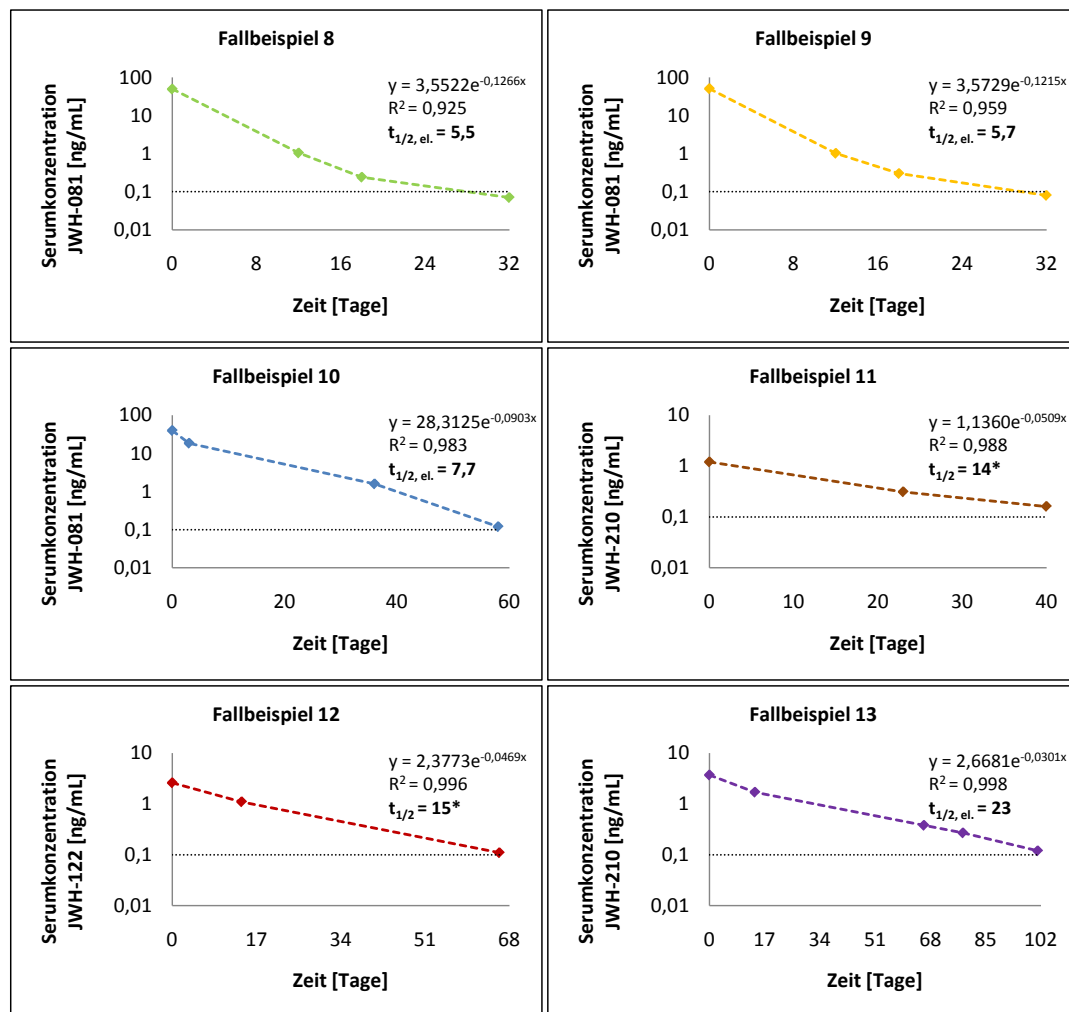


Abbildung 27 Serumkonzentrationskurven für die Fallbeispiele 8 bis 13. Die gepunktete Linie kennzeichnet jeweils das LLOQ der Quantifizierungsmethode (0,10 ng/mL). Der Zeitpunkt des ersten Messpunktes korreliert nicht mit dem Zeitpunkt der Substanzaufnahme. Die Berechnung der terminalen Eliminationshalbwertszeit erfolgte in den Fällen 8 bis 10 sowie 13 unter Einbeziehung aller Messpunkte mit Ausnahme des initialen Messwertes. * Auf Grund der zu geringen Probenzahl konnte lediglich eine Eliminationshalbwertszeit über den gesamten Betrachtungszeitraum abgeschätzt werden.

Bei jedem dieser Beispiele ist ersichtlich, dass die anfangs detektierten Substanzen für zum Teil mehrere Monate im Serum des entsprechenden Patienten nachgewiesen werden konnten. Unter Berücksichtigung aller Folgeproben ergaben sich für jene Fallbeispiele, für die mindestens drei positive Folgeproben erhalten wurden, abgeschätzte terminale Eliminationshalbwertszeiten von 5,5 bis 23 Tage (Fallbeispiele 8, 9, 10 und 13). Auf Grund einer zur Berechnung der terminalen Eliminationshalbwertszeit nicht ausreichenden Probenanzahl, wurde für die Beispiele 11 und 12 stattdessen eine Eliminationshalbwertszeit über den jeweilig gesamten Betrachtungszeitraum abgeschätzt, wobei 14 bzw. 15 Tage erhalten wurden.

Es sollte an dieser Stelle jedoch angemerkt werden, dass ein Nachkonsum bei diesen sechs Fallbeispielen nicht vollständig ausgeschlossen werden kann. Dem entgegen sprechen allerdings die kontinuierlich abfallenden Konzentrationsverläufe sowie die Nichtnachweisbarkeit neuer synthetischer Cannabinoide in allen Folgeproben, beides Kriterien, die als überaus typische Parameter für einen Nachkonsum anzusehen sind. Darüber hinaus beruhen die berechneten Eliminationshalbwertszeiten lediglich auf einer sehr geringen Probenanzahl und sollten deshalb nur als hinweisend betrachtet werden.

2.6.4.4 Expositionsversuche 1 und 2

Betrachtet man die Konzentrationsverläufe und langen Nachweisfenster der bisherig vorgestellten Fallbeispiele ist es naheliegend, dass ihnen mit hoher Wahrscheinlichkeit ein regelmäßiger Konsum zu Grunde liegt. Bei einem einmaligen oder gelegentlichen Konsum können die meisten Drogen lediglich für ein bis zwei Tage im Blut im unteren ng/mL Bereich nachgewiesen werden^[274]. Auf Grund bisher fehlender Daten zur Nachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide im Blut/Serum nach einem solchen einmaligen Konsum, sollte anhand von zwei Expositionsversuchen ein Eindruck über die zu erwartende Nachweisdauer erhalten werden.

Im Rahmen dieser Versuche nahm ein männlicher, 42-jähriger Freiwilliger peroral eine Hartgelatine kapsel mit 5 mg reinem AM-694 ein, woraufhin folgend die Eliminationskinetik über die Analyse von Serumproben verfolgt wurde. Wenige Monate später wurde der Expositionsversuch mit der Substanz AM-2201 wiederholt. In Abbildung 28 sind die erhaltenen Konzentrationsverläufe dargestellt.

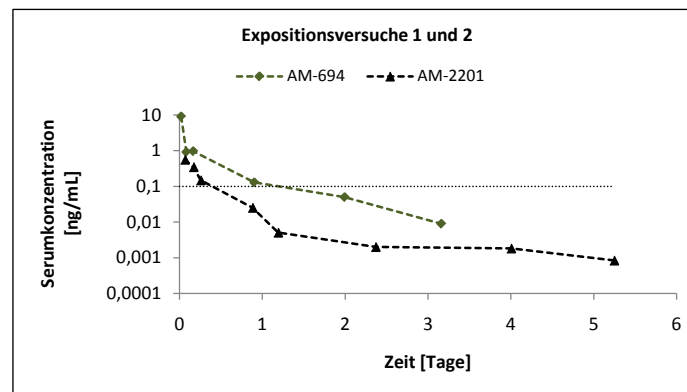


Abbildung 28 Serumkonzentrationskurven, die bei den Expositionsversuchen 1 und 2 erhalten wurden. Die gepunktete Linie kennzeichnet das LLOQ der Quantifizierungsmethode (0,10 ng/mL).

Es ist zu erkennen, dass sich die Initialkonzentrationen beider Versuche erheblich unterschieden. So war die Anfangskonzentration nach Aufnahme von 5 mg AM-694 um in etwa das Zwanzigfache höher verglichen mit der Aufnahme derselben Menge AM-2201. Interessant ist hierbei, dass der Proband während beider Versuche zu keinem Zeitpunkt pharmakologische Effekte wahrnahm, obwohl die Initialkonzentrationen jeweils Werten entsprachen, die nicht selten zu Intoxikationserscheinungen führen (Vgl. Tabelle 3). Betrachtet man die Kurvenverläufe, so fällt auf, dass die Elimination von AM-2201 langsamer als jene von AM-694 ablief. Auf Grund der Tatsache, dass viele der jeweils in der terminalen Eliminationsphase nachgewiesenen Konzentrationen im unteren ng/mL Bereich, d. h. unterhalb der Bestimmungsgrenze (LLOQ) lagen und somit nur semiquantitativ betrachtet werden können, war eine mathematische Abschätzung der terminalen Eliminationshalbwertszeit nicht möglich. Schlussendlich konnten beide Substanzen nach einmaliger Aufnahme für mindestens drei Tage nachgewiesen werden, wobei die längere Nachweisbarkeit für AM-2201 (ca. 5,2 Tage) vermutlich aus der höheren Nachweisempfindlichkeit für diese Substanz resultiert.

2.6.4.5 Schlussfolgerungen

Saito et al. stellten bei ihren postmortalen Untersuchungen von Gewebe- und Blutproben eines 59-jährigen Mannes, der zuvor MAM-2201 konsumiert hatte, enorme Unterschiede zwischen den Substanzmengen innerhalb des Untersuchungsgutes fest. So ermittelten sie im Vergleich zum Leber-, Nieren- oder Hirn- eine um mehr als 80-fach höhere Substanzmenge im Fettgewebe (ca. 1,53 mg/g)^[260]. In Zusammenschau mit den obigen

Resultaten liegt somit die Vermutung nahe, dass lipophile synthetische Cannabinoide ähnlich wie THC in hohem Umfang in tiefe Kompartimente verteilt werden (z. B. Fettgewebe). Dies führt vor allem nach extensivem Konsum zu einer prolongierten Nachweisbarkeit auf Grund einer langsamen Rückverteilung der Substanzen in die Blutbahn. Berücksichtigt man, dass für THC bisher terminale Eliminationshalbwertszeiten von bis zu 13 Tagen berichtet wurden^[268], erscheint es, dass dieser Effekt für die untersuchten synthetischen Cannabinoide möglicherweise sogar noch stärker ausgeprägt sein könnte. Die Ergebnisse weisen folglich eindeutig darauf hin, dass synthetische Cannabinoide nach Konsumende - in Abhängigkeit von Häufigkeit und Ausmaß des Konsums - ebenfalls bis zu mehreren Monaten in Serumproben nachgewiesen werden können.

Für die Beurteilung von Serumkonzentrationen im Zusammenhang mit Straßenverkehrsdelikten nach §315c und §316 StGB hat dies weitreichende Konsequenzen. So muss unabhängig von der Konsumart eine lange Nachweisdauer synthetischer Cannabinoide generell berücksichtigt werden. Vor allem niedrige Serumkonzentrationen (< 1,0 ng/mL) müssen nicht zwingend mit einer akuten und für den Tathergang relevanten Wirkung assoziiert sein. Demgegenüber ergibt sich jedoch aus Tabelle 3, dass offensichtlich insbesondere unerfahrene Konsumenten anfällig sind, auch bei solch bereits verhältnismäßig niedrigen Serumkonzentrationen erhebliche Intoxikationserscheinungen aufzuweisen. Somit darf auch in einem solchen Fall eine wirkungsbedingte Beeinträchtigung der Fahrtüchtigkeit nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden.

Im Rahmen einer Abstinenzüberwachung erscheint es bei vorliegendem Konsumnachweis als empfehlenswert, in regelmäßigen Abständen auf einen eventuellen Nachkonsum zu testen (z. B. wöchentlich). Nur hierdurch wird eine korrekte Interpretation der Analyseergebnisse gewährleistet, da für die Beurteilung, ob ein Neukonsum stattgefunden hat, die individuellen Konzentrationsverläufe verfolgt werden müssen. Auf Grund der Tatsache, dass die Serumkonzentrationen in der späten Phase der Elimination gering sind und lediglich sehr langsam fallen, muss zusätzlich berücksichtigt werden, dass sie in Abhängigkeit des Ausmaßes des Fettstoffwechsels ebenfalls leichten Schwankungen unterliegen können. Jene können insbesondere durch Diät, Stress oder bestimmte Medikationen verursacht werden (z. B. durch Einnahme von Hormonen, Antidiabetika oder Statinen). Somit muss auch die Möglichkeit leicht ansteigender Serumkonzentrationen in aufeinander folgenden Proben in Betracht gezogen werden. Solange weder neue Substanzen noch beträchtlich ansteigende

Substanzkonzentrationen nachgewiesen werden können, müssen niedrige Serumkonzentrationen in positiven Folgeproben daher als Konsequenz einer langen terminalen Eliminationshalbwertszeit angesehen werden. Demzufolge darf bei Verwendung lediglich qualitativer Nachweisverfahren bei Vorliegen eines positiven Analyseergebnisses im Zweifelsfall nicht automatisch von einem wiederholten Konsum ausgegangen werden.

3 Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Oral Fluid-Proben

3.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Mit der Entwicklung der Serumanalytik für synthetische Cannabinoide bestand für zahlreiche Drogenentzugseinrichtungen zum ersten Mal die Möglichkeit, von nun an gezielt auf den Konsum dieser Substanzen testen zu lassen. Trotzdem häufte sich bereits kurze Zeit nach Beginn ihrer routinemäßigen Anwendung die Anfrage, ob ebenfalls der Nachweis in Urinproben möglich sei, da für ihre Abnahme kein invasives Verfahren erforderlich ist. Im Falle des Nachweises synthetischer Cannabinoide hat die Verwendung von Urin als analytisches Probengut jedoch bestimmte Nachteile. Unter dem Aspekt, dass die Muttersubstanzen synthetischer Cannabinoide im Allgemeinen renal nicht in unveränderter Form ausgeschieden werden^[203, 204, 209, 213, 218], stellen deren Metaboliten die analytischen Targets im Urin dar. Dies macht jedoch die vorherige Identifizierung und strukturelle Charakterisierung der Hauptmetaboliten aller Substanzen erforderlich^[200-215, 217-219, 275], die in entsprechende Analysenverfahren aufgenommen werden sollen. Auf Grund des hohen Zeitaufwandes, den dieses Vorgehen mit sich bringt, ergibt sich somit nicht selten eine beträchtliche Verzögerung zwischen dem Aufkommen neuer synthetischer Cannabinoide auf dem Drogenmarkt und ihrer endgültigen Aufnahme in ein Urinscreening. Doch selbst bei gegebener Substanzabdeckung wird die Befundinterpretation im Rahmen der Abstinenzkontrolle erschwert. Da die prolongierte Nachweisbarkeit der Muttersubstanzen in Serum eine ebenso lange in Urin nach sich zieht^[59], reicht ein qualitatives Analyseergebnis bei positiven Folgeproben meist nicht aus, um die Untersuchungsergebnisse hinsichtlich eines Nachkonsums verlässlich bewerten zu können. Stattdessen ist auch für Urinproben eine quantitative Betrachtung erforderlich. Dies wird wiederum durch die fehlende Verfügbarkeit von Referenzstandards erheblich erschwert.

Während diese Nachteile bei der Analytik von Serumproben nicht gegeben sind, ist die Gewinnung einer Blutprobe in vielen Institutionen jedoch nicht oder nur schwer durchführbar. Dies liegt in vielen Fällen entweder am Mangel zur Blutabnahme befugten Personals oder an der Tatsache, dass ein venöser Zugang insbesondere bei einer über lange Zeit bestehenden Heroinabhängigkeit nicht mehr gegeben sein kann. Auf Grund dieser Bedingungen ergab sich für die Abstinenzkontrolle folglich die Suche nach einer alternativen Matrix mit den folgenden Charakteristika: (1) einfache und nicht invasive Probennahme, (2)

Nachweis der Muttersubstanzen sowie (3) kleine Nachweisfenster, wodurch die Identifizierung eines erst kurz zurückliegenden Konsums erleichtert werden soll.

Unter Oral Fluid (OF) versteht man jene Probenmatrix, die sich aus den Sekreten des Mundraumes, vorwiegend der drei Haupt-¹¹ und zahlreichen weiteren kleineren Nebenspeicheldrüsen auf der Zunge oder der Mundschleimhaut, zusammensetzt. In OF lassen sich neben dem Hauptbestandteil Wasser (ca. 99 %) sowie Ionen und Proteinen ferner auch Epithelzellen, Bakterien und ggf. Speisereste finden. Der Mensch produziert in Abhängigkeit von Alter, circadianen Rhythmen, Gesundheitszustand, hormonellem Status, verschiedenen Stimuli (z. B. Geschmack oder Geruch), Medikation sowie weiteren zahlreichen Einflüssen ca. 500 bis 1500 mL Speichel am Tag. Hierbei kann der Speichelfluss je nach Situation zwischen 0 und 6 mL/min betragen. Auf Grund des hohen Wassergehaltes ist Speichel im Vergleich zu Serum hypoton^[276, 277].

Die Verwendung von OF als analytische Matrix hat im Vergleich zu Serum und Urin zahlreiche Vorteile. Die Probengewinnung von OF erfolgt im Gegensatz zu Serum nicht invasiv, wodurch das Infektionsrisiko minimiert und kein medizinisch geschultes Personal erforderlich ist. Im Gegensatz zu Urin verletzt die Probennahme einerseits weniger die Privatsphäre des Probanden und ist andererseits leichter zu beobachten, womit eine Manipulation der Probe erschwert wird. Da zudem häufig die Muttersubstanzen einer Reihe von Drogen- und Medikamentenwirkstoffen in OF detektierbar sind, gilt OF in der klinischen und forensischen Analytik seit mehreren Jahren als besonders geeignete, alternative Matrix zu Serum oder Urin^[277-280].

Sich im Blut befindende Substanzen können theoretisch über alle bekannten Transportwege in den Speichel gelangen. Hierbei ist jedoch vor allem der passive Transportweg durch die Membranen der Speichel sezernierenden Zellen von Bedeutung, weshalb das Ausmaß der Membranpassage hauptsächlich von der Plasmaproteinbindung, dem pK_a -Wert, der Lipophilie sowie dem Molekulargewicht der betrachteten Substanz abhängt^[276]. Zahlreiche Drogen können nach ihrer Aufnahme in OF nachgewiesen werden, wobei auf Grund der pH-Unterschiede zwischen Serum (7,4) und OF (4 – 6) insbesondere schwache Basen infolge

¹¹ Ohrspeicheldrüse (*Glandula parotidea*), Unterkieferspeicheldrüse (*Glandula submandibularis*) und Unterzungspeicheldrüse (*Glandula sublingualis*).

eines „ion trappings“ sowohl in höherem Ausmaß als auch für längere Zeit in OF detektiert werden können (z. B. Amphetamin und Opiate)^[280].

Basierend auf diesen Charakteristika galt OF somit als vielversprechende Analysenmatrix für die Anwendung im Rahmen der Abstinenzkontrolle, weshalb sich dieser Teil der vorliegenden Arbeit auf die Entwicklung von Nachweismethoden sowie auf Studien zur Nachweisbarkeit und Stabilität synthetischer Cannabinoide in OF-Proben konzentrierte.

3.2 Nachweis von synthetischen Cannabinoiden in OF mithilfe des Trägers DCD 5000 Probensammlers

Für die Abnahme einer OF-Probe existieren derzeit verschiedene Methoden, die sowohl die Viskosität der OF-Probe als auch das erhaltene Probenvolumen verschiedenartig beeinflussen. Am häufigsten kommen speziell entwickelte Systeme zur Anwendung, die eine schnelle und reproduzierbare Probennahme innerhalb weniger Minuten gewährleisten. Hierbei handelt es sich entweder um ein schwammartiges Polymer, das die Probe bei Kontakt mit der Mundhöhle aufsaugt, oder um eine meist Zitronensäure haltige Lösung, die den Speichelfluss anregt und nach kurzer Verweilzeit im Mundraum in ein geeignetes Sammelgefäß überführt wird. Beide Systeme verwenden häufig zusätzliche Pufferlösungen zur Stabilisierung der Probe bzw. der Analyten nach erfolgter Probennahme^[277-280]. Derartige Zusätze sowie die Anregung des Speichelflusses führen jedoch zu einer Verdünnung der OF-Probe und somit zu einer Verfälschung der Probenkonzentration, weshalb nur noch semiquantitative Rückschlüsse möglich sind. Ferner können die verwendeten Pufferlösungen ebenfalls Interferenzen bei einer LC/MS(/MS)-Analytik verursachen. Als weiterer Nachteil ergibt sich, dass lipophile Analyten wie beispielsweise natürliche Cannabinoide oder einzelne Benzodiazepine häufig in hohem Ausmaß an das Polymer des Probensammlers adsorbieren und einem Nachweis somit schlechter zugänglich sind. Dies kann ggf. zu falsch-negativen Ergebnissen führen^[281-285]. Ein Beispiel für einen solchen Polymerbasierten Probennehmer ist der DCD 5000 der Firma Dräger, der in Abbildung 29 dargestellt ist. Der DCD 5000 besteht aus einem Handstück, in das der Polymerprobennehmer eingefasst ist. Am hinteren Ende des Probennehmers befindet sich ein Volumenindikator, der den Endpunkt der Probennahme durch Blaufärbung anzeigt. Die Probennahme wird wie folgt durchgeführt. Im Falle einer kurzzeitig zurückliegenden nasalen oder oralen Aufnahme von Substanzen wird empfohlen, zunächst mindestens 10 Minuten bis zur Probennahme zu warten. Nach Herausnahme aus

dem Transportröhrchen, wird der Speichelsammler an der Mundschleimhaut der Wangeninnenseite des Probanden platziert und dort vorsichtig von einer Seite zur anderen bewegt, ohne dass am Probensammler gesaugt oder auf ihm gekaut wird. Nach Färbung des Volumenindikators wird der Sammler anschließend zurück in das Transportröhrchen gesteckt und dieses mit dem Deckel verschlossen. Durch die Verwendung des DCD 5000 wird somit eine schnelle und reproduzierbare Probennahme gewährleistet. Für den Fall, dass mehrere Proben gleichzeitig von demselben Probanden abgenommen werden sollen (z. B. für eine Mehrfachbestimmung), können zwei Probensammler an ihrer Rückseite zusammengesteckt und die Probennahme wie beschrieben durchgeführt werden. Die OF-Probe wird erhalten, indem der Probennehmer mit dem Auswurfhebel in ein geeignetes Röhrchen ausgestoßen und die Probe anschließend durch Zentrifugation abgetrennt wird.

Angesichts dessen, dass der DCD 5000 in der Arbeitsgruppe bereits erfolgreich im Rahmen eines Projektes zum Nachweis von Benzodiazepinen in OF eingesetzt werden konnte, wurde zunächst versucht, eine Nachweismethode für synthetische Cannabinoide in OF unter Verwendung dieses Probennehmers zu entwickeln.

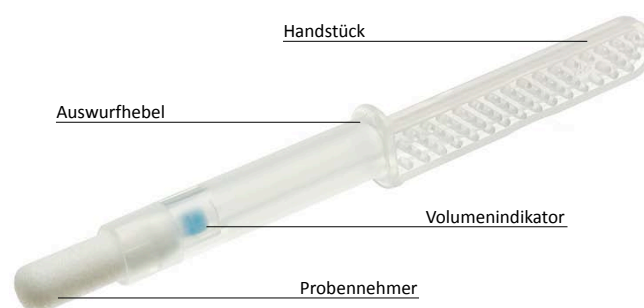


Abbildung 29 Speichelsammler DCD 5000 der Firma Dräger.

3.2.1 Entwicklung der Nachweismethode

Auf Grund der Tatsache, dass synthetische Cannabinoide in Form der Muttersubstanzen in OF nachgewiesen werden können, konnte die bereits für die Serumanalytik entwickelte LC/ESI-MS/MS-Methode verwendet werden. Folglich galt es im Rahmen der Methodenentwicklung lediglich noch ein geeignetes Protokoll zur Extraktion der Zielanalyten aus der Probenmatrix zu entwickeln. Hierbei stellte sich folgendes Vorgehen als geeignet heraus, die Analyten aufzukonzentrieren. Nach Ausstoßen des Probennehmers in

ein Zentrifugationsröhrchen erfolgte die Zugabe von 1 mL Ethanol. Hierdurch sollten sowohl Probenreste vom Polymer abgelöst als auch feste Matrixbestandteile aus der OF-Probe durch Ausfällung abgetrennt werden. Im Anschluss wurde die ethanolische Probe zur Trockne gebracht, der Rückstand in Puffer rekonstituiert und mittels des bereits verwendeten Gemisches aus n-Hexan/Ethylacetat extrahiert. Vorversuche zeigten, dass durch Verwendung des DCD 5000 ca. 330 µL OF als Probenvolumen erhalten werden. Daher wurde für die Methodvalidierung ein Probenvolumen von 333 µL verwendet. Der genaue Ablauf der Probenvorbereitung für authentische Proben und Validierungsproben ist in Kapitel 5.4.3 bzw. 5.4.4 des Teils Material und Methoden beschrieben.

3.2.2 Validierungsergebnisse

Die Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in OF-Proben wurde anschließend ebenfalls nach forensischen Richtlinien validiert, wobei das Substanzspektrum jenem der zuvor validierten Serummethode entsprach (30 Substanzen). Die Ergebnisse waren hinsichtlich Selektivität, Matrixeffekten sowie Autosamplerstabilität mit denen der Validierung der Serummethode vergleichbar. Für eine detaillierte Diskussion der Ergebnisse sei an dieser Stelle auf ^[115] verwiesen. Im Folgenden soll lediglich kurz auf die wesentlichen Unterschiede eingegangen werden.

Bei den Untersuchungen zur Linearität und Präzision zeigte sich, dass die von der GTFCh geforderten Kriterien für 28 der 30 untersuchten Analyten erfüllt waren und sich die entwickelte Methode somit zur quantitativen Bestimmung von allen Analyten außer JWH-307 und CRA-13 eignet. Als analytische Grenzen wurden LOD-Werte zwischen 0,015 - 0,9 ng/mL und LLOQ-Werte zwischen 0,15 – 3,0 ng/mL erhalten (siehe Tabelle XIV und Tabelle XV im Anhang), wodurch ersichtlich wird, dass die Zielanalyten mit der Nachweismethode im Vergleich zum Serumnachweis ebenfalls hochempfindlich in OF nachgewiesen werden können. Da das Probenvolumen, das durch Verwendung des DCD 5000 Probensammlers erhalten wird (ca. 330 µL), nicht für eine Mehrfachbestimmung der Probe ausreicht, wurde auf Untersuchungen zur Einfrier-/Auftaustabilität verzichtet. Stattdessen galt es zu überprüfen, ob die oben beschriebene Problematik, dass lipophile Analyten häufig an das Polymermaterial von Probennehmern adsorbieren, ebenfalls für den DCD 5000 besteht. Hierfür wurden die Analytmengen bestimmt, die nach unterschiedlich

langem Kontakt mit dem Polymer des Probensammlers wiedergefunden werden (siehe Tabelle XIX im Anhang). Es zeigte sich, dass die Analyten bereits nach einem fünfminütigen Kontakt mit dem Probensammler in erheblichem Umfang an dessen Oberfläche adsorbieren und somit einem Nachweis entzogen werden (Wiederfindungen $\leq 77\%$; RSD $\leq 19\%$). Nach drei Tagen äußerte sich dieser Effekt noch deutlich umfangreicher, da der Großteil der Analyten entweder nur noch im Bereich der Nachweisgrenze oder gar nicht mehr detektierbar war. Lediglich für Analyten mit einem basischen Morpholin- oder Piperidinsubstituenten (z. B. JWH-200 oder AM-2233) konnten höhere Wiederfindungen festgestellt werden. Die Problematik, dass synthetische Cannabinoide an die Polymeroberfläche eines Probensammlers adsorbieren können, beobachteten ebenfalls *Coulter et al.* bei der Verwendung des Probensammlers Quantisal. Im Rahmen ihrer Studien betrug der hierdurch verursachte Analytverlust bis zu 45 %, wobei der Probensammler unmittelbar nach erfolgter Probennahme zur Probenstabilisierung in einer speziellen Pufferlösung gelagert wurde^[106]. Im Falle des DCD 5000 konnten die Analytwiederfindungen beträchtlich erhöht werden, indem die Probensammler bis zur Analyse der Probe in Ethanol gelagert wurden (Wiederfindungen $\geq 43\%$; RSD $\leq 9,2\%$). Demnach ist es bei Verwendung des DCD 5000 generell zu empfehlen, den Probensammler unmittelbar nach erfolgter Probennahme durch Lagerung in Ethanol zu stabilisieren. An dieser Stelle muss jedoch angemerkt werden, dass im Rahmen der Stabilitätsstudien nicht weiter untersucht wurde, inwieweit der Adsorptionseffekt bei unstabilisierten Probensammlern sättigbar, d. h. konzentrationsabhängig ist.

3.2.3 Ergebnisse authentischer, gepaarter Serum- und OF-Proben

Die entwickelte und validierte Nachweismethode wurde im Zeitraum von Dezember 2010 und Januar 2012 zur Analyse von insgesamt 264 authentischen OF-Proben, die mit dem DCD 5000 abgenommen wurden, verwendet. Der Großteil der Proben stammte dabei hauptsächlich aus forensischen Therapieeinrichtungen im Zuge der Abstinenzkontrolle. Obwohl alle Auftraggeber im Vorfeld auf die Problematik hingewiesen wurden, dass die Probensammler durch die Zugabe von Ethanol stabilisiert werden sollten, wurde der Großteil der Proben unstabilisiert eingesandt. Insgesamt wurden in 31 Proben (12 %) synthetische Cannabinoide nachgewiesen, wobei 12 verschiedene Substanzen detektiert werden konnten.

In Abbildung 30 ist ein Ausschnitt aus dem extrahierten Ionenchromatogramm einer positiv auf synthetische Cannabinoide getesteten OF-Probe dargestellt.

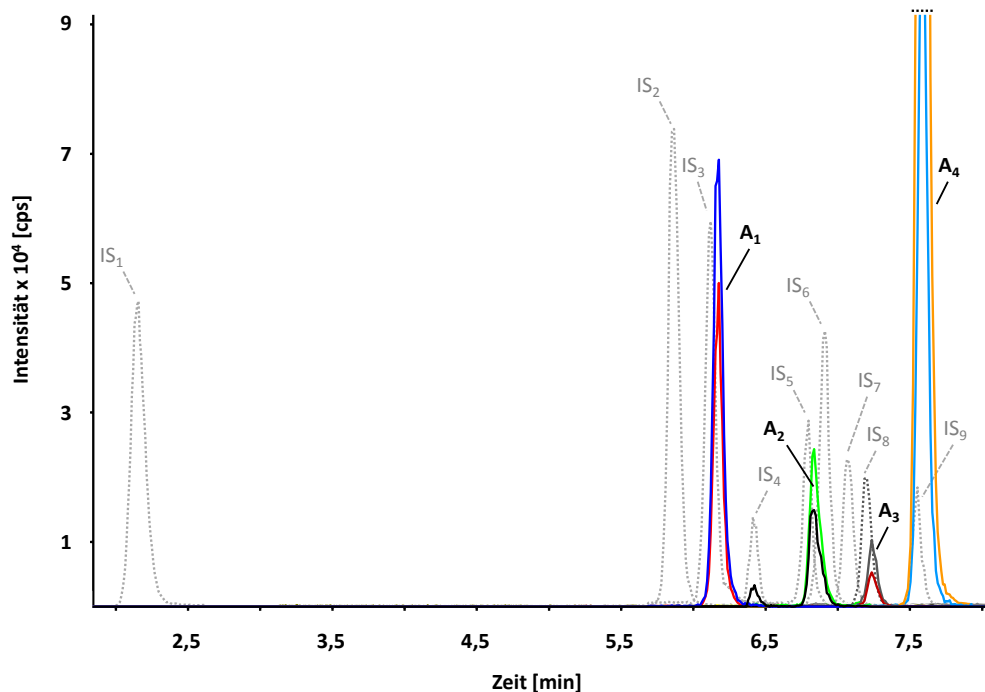


Abbildung 30 Ausschnitt aus dem extrahierten Ionenchromatogramm einer authentischen OF-Probe. Vier synthetische Cannabinoide wurden nachgewiesen. (A₁) AM-2201 0,33 ng/mL, (A₂) JWH-018 0,30 ng/mL, (A₃) JWH-122 < 0,15 ng/mL, (A₄) JWH-210 12 ng/mL; (IS₁) D₅-JWH-200, (IS₂) D₇-JWH-015, (IS₃) D₅-JWH-250, (IS₄) D₉-JWH-073, (IS₅) D₁₁-JWH-018, (IS₆) D₉-JWH-007, (IS₇) D₉-JWH-081, (IS₈) D₉-JWH-122, (IS₉) D₉-JWH-210.

In 134 der 264 untersuchten Fälle wurde zeitgleich zur OF- ebenfalls eine Serumprobe abgenommen, so dass hierdurch ein erster qualitativer Vergleich der Analysenergebnisse in beiden Matrices möglich war. In 26 dieser Fälle wurden in der zugehörigen Serumprobe synthetische Cannabinoide nachgewiesen. Dies war ebenso in 24 der zugehörigen OF-Proben der Fall. In Tabelle 8 sind die Analysenergebnisse jener 26 gepaarten Proben aufgeführt.

Tabelle 8 Analysenergebnisse von 26 OF-Proben, deren korrespondierende Serumproben positiv auf synthetische Cannabinoide getestet wurden. OF- und Serumproben wurden gleichzeitig von demselben Patienten abgenommen.

Fall Nr.	Probe	AM-694 [ng/mL]	AM-2201 [ng/mL]	JWH-018 [ng/mL]	JWH-019 [ng/mL]	JWH-081 [ng/mL]	JWH-122 [ng/mL]	JWH-203 [ng/mL]	JWH-210 [ng/mL]	JWH-250 [ng/mL]	MAM-2201 [ng/mL]	RCS-4 [ng/mL]
1	Serum	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	< 0,15	-	-	-	-	-	-
2	Serum	-	-	-	-	0,12	-	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	0,41	-	-	-	-	-	-
3	Serum	-	-	-	-	-	0,28	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	0,40	-	-	-	-	-
4	Serum	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	0,16	-	-	-	-	-
5	Serum	-	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	2,7	-	-	-	-	-
6	Serum	-	-	-	-	-	0,82	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	4,9	-	-	-	-	-
7	Serum	-	-	-	-	-	-	-	0,65	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-
8	Serum	-	-	-	-	< 0,10	0,67	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	0,16	< 0,15	-	-	-	-	-
9	Serum	-	-	-	-	0,12	-	-	0,10	-	-	-
	OF	-	-	-	-	0,36	-	-	< 0,15	-	-	-
10	Serum	-	-	-	-	0,27	-	-	0,11	-	-	-
	OF	-	-	-	-	0,66	-	-	< 0,15	-	-	-
11	Serum	-	-	-	-	0,13	-	-	< 0,10	-	-	-
	OF	-	-	-	-	0,17	-	-	< 0,15	-	-	-
12	Serum	-	-	-	-	-	0,24	-	< 0,10	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	< 0,15	-	0,96	-	-	-
13	Serum	-	-	-	-	-	-	-	0,22	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	7,2*	-	269*	-	-	-
14	Serum	-	-	-	-	-	-	-	0,35	-	-	-
	OF ^a	-	-	-	-	-	< 0,15	-	1,8	-	-	-
15	Serum	-	-	-	-	-	0,26	-	1,0	-	-	-

Fall Nr.	Probe	AM-694 [ng/mL]	AM-2201 [ng/mL]	JWH-018 [ng/mL]	JWH-019 [ng/mL]	JWH-081 [ng/mL]	JWH-122 [ng/mL]	JWH-203 [ng/mL]	JWH-210 [ng/mL]	JWH-250 [ng/mL]	MAM-2201 [ng/mL]	RCS-4 [ng/mL]
16	OF	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-
	Serum	-	-	-	-	-	-	-	0,10	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	-	-	0,30	-	-	< 0,15
17	Serum	-	-	-	-	-	0,20	-	2,8*	-	-	0,68
	OF	-	-	-	-	-	< 0,15	-	4,8	-	-	5,3
18	Serum	-	-	-	-	< 0,10	-	-	1,4	-	-	0,10
	OF	-	-	-	-	2,1	< 0,15	-	54*	-	-	5,0
19	Serum	-	0,18	-	-	-	0,22	-	-	-	-	-
	OF ^a	-	8,6*	0,41	-	-	< 0,15	-	-	-	-	-
20	Serum	-	0,22	-	-	-	0,23	-	1,6	-	-	-
	OF	0,43	0,48	1,2	-	-	1,2	-	457*	-	-	-
21	Serum	-	1,9	-	-	-	4,4*	-	8,3*	-	-	-
	OF	-	22*	0,53	< 0,15	-	37*	-	52*	-	-	-
22	Serum	-	-	-	-	-	-	-	0,92	-	-	-
	OF ^a	-	1,2	< 0,15	-	-	3,5	0,51	154*	-	-	-
23	Serum	-	0,33	0,23	-	-	0,37	-	2,0	-	-	-
	OF	-	0,33	0,30	-	-	< 0,15	< 0,15	12*	-	-	-
24	Serum	-	-	-	-	-	11*	-	-	-	-	-
	OF ^a	-	0,44	1,2	0,61	-	381*	-	15*	-	0,41	-
25	Serum	-	-	-	-	-	0,22	-	-	-	-	-
	OF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Serum	-	-	-	-	2,7*	-	-	0,43	0,20	-	-
	OF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^a Pad des Speichelsammlers wurde mit Ethanol stabilisiert

* OF- und Serumkonzentrationen oberhalb des höchsten Kalibranten wurden extrapoliert

Diese hohe Übereinstimmung der qualitativen Analysenergebnisse war insofern überraschend, da angesichts der nicht gegebenen Stabilisierung der Mehrheit der OF-Proben mit erheblichen Nachweisproblemen infolge von Adsorptionsverlusten gerechnet werden musste. Stattdessen gaben die verhältnismäßig hohen OF-Konzentrationen, die in den Fällen 13, 18, 20 und 21 festgestellt wurden, Anlass zu der Vermutung, dass die Oberfläche des Probensammlers sättigbar ist und die Problematik des Adsorptionsverlustes bei OF-Proben mit sehr hohen Konzentrationen deutlich weniger ausgeprägt ist. Darüber hinaus wiesen die Fälle 13, 20, 22 und 24, bei denen im Vergleich zur korrespondierenden Serum- eine überaus hohe OF-Konzentration bestimmt wurde, auf das Erfassen von hohen Substanzmengen hin, die nach dem Rauchen in der Mundhöhle verbleiben. Eine solche Kontamination der Mundhöhle kann häufig nach einem inhalativen, nasalen oder oralen Konsum beobachtet werden und äußert sich typischerweise in stark erhöhten Probenkonzentration in enger zeitlicher Nähe zur Substanzaufnahme^[277, 279, 280].

3.2.4 Schlussfolgerungen

Aus der hervorragenden Übereinstimmung der qualitativen Analysenergebnisse beider Matrices kann zunächst abgeleitet werden, dass sich OF in Fällen, in denen eine Blutabnahme nicht realisierbar ist, als geeignete Alternative zur Blutanalytik anbietet. Problematisch erscheint, dass bei Verwendung von speziellen Probeabnahmesystemen mit Analytverlusten infolge der Adsorption an polymere Oberflächen gerechnet werden muss. Da im Falle des DCD 5000 Probensammlers keine Hilfsmittel zur Verhinderung von Adsorptionseffekten vom Hersteller angeboten bzw. mitgeliefert werden, muss die die Probe abnehmende Person selbständig für eine solche Stabilisierung sorgen, um bei sehr geringen Probenkonzentrationen falsch-negativen Ergebnissen vorzubeugen. Dies erfordert einen zusätzlichen Aufwand bei der Probennahme und reduziert somit die Praktikabilität des DCD 5000 erheblich. Solange eine Stabilisierung gewährleistet wird, ist der DCD 5000 für die Analyse synthetischer Cannabinoide in OF gut geeignet.

3.3 Nachweis von synthetischen Cannabinoiden in neat OF mithilfe des Biophor RapidEASE Probensammlers

Eine weitere Möglichkeit zur Abnahme einer OF-Probe ist die Expektoration. Hierbei wird die erforderliche Probenmenge in ein geeignetes Gefäß gespuckt, wodurch unverdünnter OF, sogenannter „neat OF“ (nOF), erhalten wird. Obwohl diese Methode unter Umständen als unangenehm empfunden wird und ein reduzierter Speichelfluss die Probennahme erschweren kann (z. B. durch die Einnahme anticholinerg wirkender Substanzen), liefert sie im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Probensammlern reale OF-Mengen, wodurch eine verlässliche Bestimmung der Substanzkonzentration ermöglicht wird^[278-280]. Ein Nachteil ist, dass nOF-Proben im Vergleich zu OF-Proben, die mit einem speziellen Probennehmer erhalten werden, im Allgemeinen einen deutlich höheren Anteil fester Matrixbestandteile beinhalten (z. B. Zelltrümmer, Proteine).

Wegen der geringen Akzeptanz des DCD 5000 Probensammlers seitens der Auftraggeber sowie der Adsorptionsproblematik, sollte deshalb versucht werden, eine geeignete Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in nOF zu entwickeln. Hierdurch sollten zuverlässige und vergleichbare quantitative Ergebnisse gewährleistet werden. Darüber hinaus sollte die Methode für Studien zur allgemeinen Nachweisdauer synthetischer Cannabinoide in OF angewendet werden, um ermitteln zu können, ob sich diese Probenmatrix zum Nachweis eines erst kurz zurückliegenden Konsums eignet.

Zur Probennahme wurde der Biophor RapidEASE Probensammler ausgewählt. Hierbei handelt es sich um ein aus hochwertigem Borosilikatglas bestehenden Röhrchen, das mit einem Trichter zum Auffangen der nOF-Probe versehen ist (Abbildung 31). Die Probennahme wird wie folgt durchgeführt. Vor der Probennahme spült der Proband zunächst seinen Mund mit Wasser und wartet anschließend für ca. 10 Minuten. Nach Aufschrauben des blauen Auffangtrichters auf das Probenröhrchen spuckt der Proband anschließend solange in das Probenröhrchen bis das erforderliche Mindestvolumen von ca. 2 mL erreicht ist (erkennbar an einer schwarzen Linie zur Volumenanzeige). Der Auffangtrichter wird entfernt und das Probenröhrchen verschraubt und zum Analysenlabor versendet.



Abbildung 31 nOF-Probensammler RapidEASE der Firma Biophor.

3.3.1 Entwicklung der Nachweismethode

Auch in diesem Fall konnte auf die bereits bestehende LC/ESI-MS/MS-Methode zurückgegriffen werden, so dass erneut lediglich ein geeignetes Verfahren zur Extraktion der Zielanalyten aus der Probenmatrix entwickelt werden musste. Als Probenvolumen wurden 200 μL nOF gewählt. Im Gegensatz zu den beiden zuvor beschriebenen Nachweismethoden stellte sich in Vorversuchen heraus, dass eine flüssig-flüssig-Extraktion keine ausreichend hohen Extraktionsausbeuten gewährleistet. Auch eine vorherige Zentrifugation der Probe, um die festen Matrixbestandteile abzutrennen, war nicht zielführend, da die resultierenden Extraktionsausbeuten nochmals geringer ausfielen. Möglicherweise können diese Resultate auf starke Wechselwirkungen zwischen den Analyten und den festen Matrixbestandteilen der Probe zurückgeführt werden, die mittels einer flüssig-flüssig Extraktion nicht ausreichend überwunden werden können. Ähnliche Befunde wurden ebenfalls für THC in nOF von *Molnar et al.* beschrieben^[286]. Durch Zugabe von eiskaltem Acetonitril konnten die Matrixbestandteile gefällt und die Zielanalyten erfolgreich aufkonzentriert werden. Der genaue Ablauf der Probenaufarbeitung ist unter 5.5.3 im Teil Material und Methoden beschrieben.

3.3.2 Validierungsergebnisse

An dieser Stelle wird auf die Kernergebnisse der Validierung hingewiesen. Für eine detaillierte Diskussion der Validierungsergebnisse wird auf^[122] verwiesen.

Alle Substanzen erfüllten die von der GTFCh erhobenen Kriterien für eine präzise quantitative Bestimmung (siehe Tabelle XXI im Anhang). Da für die Substanzen AM-2233 sowie WIN 48,098 kein geeigneter ISTD gefunden werden konnte, um die umfangreichen Matrixeffekte auszugleichen, ist für sie lediglich eine semiquantitative Bestimmung möglich. Als analytische Grenzen wurden LOD-Werte zwischen 0,02 – 0,40 ng/mL und LLOQ-Werte

zwischen 0,20 – 4,0 ng/mL erhalten (siehe Tabelle XX im Anhang). Hierdurch zeigte sich, dass die Zielanalyten auch in nOF mit der Nachweismethode hochempfindlich nachgewiesen werden können. Im Rahmen der Stabilitätsstudien wurde für JWH-307 nach mehrmaligem Einfrieren und Auftauen reproduzierbar eine Wiederfindung von 69 – 77 % festgestellt (siehe Tabelle XXV im Anhang). Aus diesem Grund wurde die Substanz bei allen folgenden Anwendungen der Methode ebenfalls nur semiquantitativ bestimmt. Für alle restlichen Analyten ergaben sich unter diesen Lagerungsbedingungen keine Hinweise auf Instabilitäten, so dass bei Reanalyse einer nOF-Probe keine relevante Abnahme der Substanzkonzentration zu erwarten ist.

3.3.3 Untersuchungen zur Nachweisbarkeit von synthetischen Cannabinoiden in authentischen nOF-Proben

3.3.3.1 Expositionsversuch 3

Um erste Kenntnisse zur Langzeitnachweisbarkeit und etwaigen Verteilungsprozessen synthetischer Cannabinoide in nOF zu erhalten, nahm ein männlicher Proband peroral eine Hartgelatinekepsel mit 5 mg reinem AM-2201 ein. Eine Kontamination des Mundraumes konnte über diesen Applikationsweg ausgeschlossen werden. Daraufhin wurden über einen Zeitraum von 25 Stunden sowohl Serum- als auch nOF-Proben abgenommen. Die Serumproben wurden anschließend bei – 20 °C aufbewahrt. Die Lagerung der nOF-Proben erfolgte bei 4 °C, da entsprechende Vorversuche gezeigt hatten, dass hierdurch eine ausreichende Analytstabilität gewährleistet ist^[287]. Die Analyse der Proben wurde spätestens sieben Tage nach erfolgter Probennahme durchgeführt. Der Proband nahm erneut keine pharmakologischen Effekte wahr.

Wie in Abbildung 32 ersichtlich, konnte AM-2201 über den gesamten Untersuchungszeitraum in Serum nachgewiesen werden. Gleichzeitig wurde die Substanz in einer nOF-Probe mit einer Konzentration nahe dem LOD der Nachweismethode detektiert. Unter Berücksichtigung, dass sich die hier festgestellten Serumkonzentrationen in einer Größenordnung bewegen, die häufig in der Routineanalytik beobachtet wird, deutet dies darauf hin, dass synthetische Cannabinoide lediglich in sehr geringem Ausmaß von Speicheldrüsen sezerniert werden. Obwohl eine Verteilung dieser Substanzen in OF erfolgt, scheint dieser Vorgang eher von untergeordneter Rolle zu sein. Allerdings konnten bei den

zuvor in Kapitel 3.2.3 dieses Abschnittes beschriebenen authentischen OF-Proben Konzentrationen im hohen ng/mL-Bereich festgestellt werden. Dies gibt Anlass zur Vermutung, dass positive OF-Proben hauptsächlich auf die Erfassung von Mundhöhlenkontamination zurückzuführen sind.

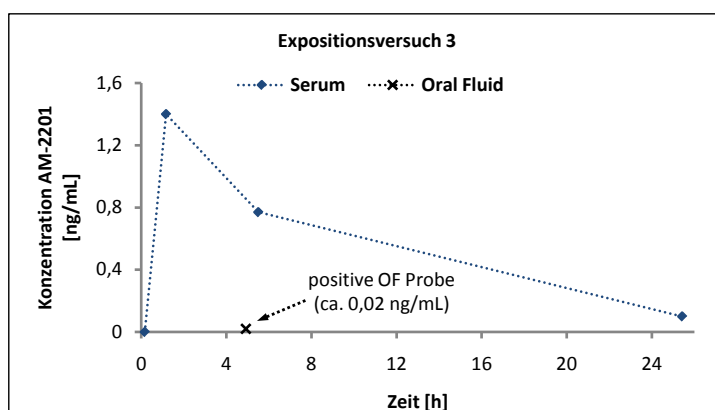


Abbildung 32 Simultane Bestimmung von AM-2201 in Serum- und nOF-Proben über einen Zeitraum von 25 h nach oraler Einnahme von 5 mg reinem AM-2201. Die Konzentration der nOF-Probe liegt nahe des LOD (0,02 ng/mL) der Nachweismethode und sollte somit semiquantitativ betrachtet werden.

3.3.3.2 Expositionsversuch 4

Auf Grund dieser Ergebnisse galt es einen Eindruck zu bekommen, welche initialen nOF-Konzentrationen durch die Kontamination der Mundhöhle beim Rauchen verursacht werden und über welchen Zeitraum die Substanzen anschließend nachgewiesen werden können. Hierfür zogen zwei männliche Probanden jeweils drei Mal kurz an einem Joint, ohne zu inhalieren, wobei der Rauch für wenige Sekunden im Mundraum belassen und anschließend ausgeblasen wurde. Der Joint enthielt jeweils 100 mg fünf verschiedener Räuchermischungen sowie 500 mg Tabak. Die Räuchermischungen wurden im Vorfeld wie in Kapitel 5.1 des Teils Material und Methoden beschrieben qualitativ auf den Inhalt etwaiger synthetischer Cannabinoide untersucht, wobei die folgenden 12 Substanzen nachgewiesen werden konnten: AM-2201, JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-122, JWH-200, JWH-210, JWH-250, JWH-251, JWH-307, MAM-2201 sowie das *ortho* Isomer von RCS-4. Über die folgenden 90 Stunden wurden nOF-Proben beider Probanden gesammelt. Nach ca. 3 Stunden wurde beiden Probanden ebenfalls eine Serumprobe abgenommen, in der jeweils keine synthetischen Cannabinoide nachgewiesen werden konnten. Beide Probanden nahmen über den gesamten Zeitraum des Experimentes keine pharmakologischen Effekte wahr.

In Abbildung 33 und Abbildung 34 sind die erhaltenen nOF-Konzentrationsprofile beider Probanden für alle 12 enthaltenen synthetischen Cannabinoide dargestellt. In Abhängigkeit von Substanz und Proband wurden nach Exposition zunächst initiale nOF-Konzentrationen zwischen 7 und 577 ng/mL festgestellt, was darauf hindeutet, dass hohe Substanzmengen in die Mundhöhle beider Probanden eingetragen wurden. Interessanterweise sanken die Konzentrationen für alle Substanzen innerhalb der folgenden 30 Minuten um mindestens 70 %. Im Falle des ersten Probanden konnten JWH-200 sowie das *ortho* Isomer von RCS-4 für ca. 6 Stunden nachgewiesen werden, während der Großteil der restlichen Substanzen für mindestens 28 Stunden detektiert werden konnte. Hierbei wurden für die Substanzen JWH-251, JWH-210 sowie JWH-307 sogar Nachweisfenster von 37, 47 bzw. 55 Stunden festgestellt. Die Nachweisfenster, die für den zweiten Probanden erhalten wurden, waren deutlich kürzer. Während alle Substanzen für mindestens 6 Stunden detektiert werden konnten, waren 5 Substanzen über einen Zeitraum von ca. 26 Stunden nachweisbar (JWH-018, JWH-019, JWH-210, JWH-251 und JWH-307). Bemerkenswerterweise waren in manchen der späteren Proben Analyten mit Konzentrationen nahe des LOD nachweisbar, obwohl sie zuvor bereits über mehrere Proben hinweg bereits nicht mehr detektiert werden konnten. Eine Erklärung hierfür ist möglicherweise die verhältnismäßig geringere Messgenauigkeit bei solch kleinen Probenkonzentrationen. Jene ergibt sich insbesondere aus schwankenden Matrixeffekten, die wiederum auf intraindividuellen Unterschieden der Zusammensetzung der nOF-Proben beruhen (z. B. Menge fester Matrixbestandteile).

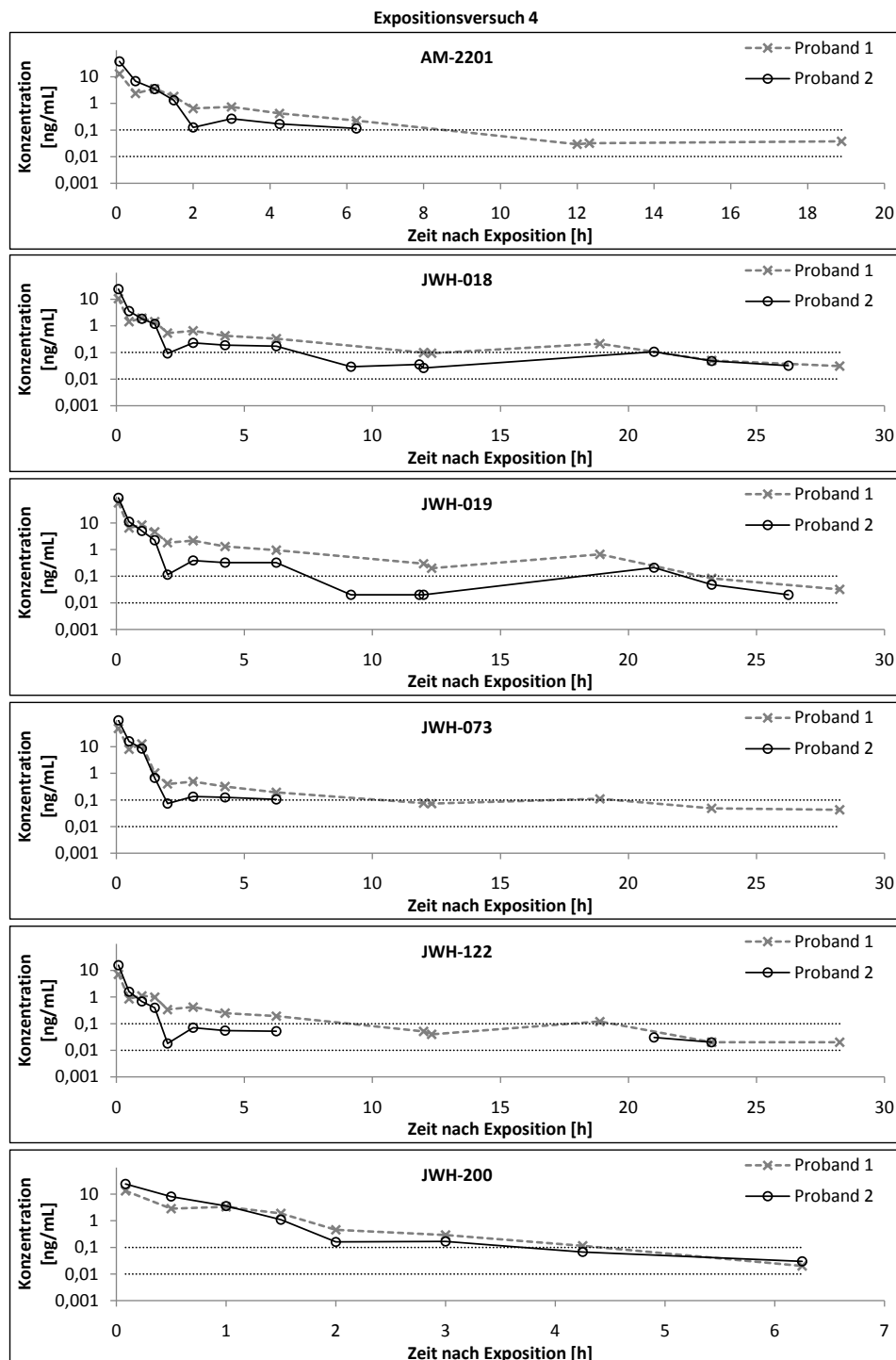


Abbildung 33 Konzentrationsprofile der synthetischen Cannabinoide AM-2201, JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-122 und JWH-200 in nOF. Die Proben wurden von zwei Probanden erhalten nachdem sie gegenüber Rauch eines Joints exponiert waren, der fünf verschiedene Räuchermischungen enthielt. Die gepunkteten Linien kennzeichnen die analytischen Grenzen der Nachweismethode: Obere Linie, LLOQ (0,20 ng/mL); untere Linie, LOD (0,02 ng/mL). Werte zwischen LLOQ und LOD sollten semiquantitativ betrachtet werden.

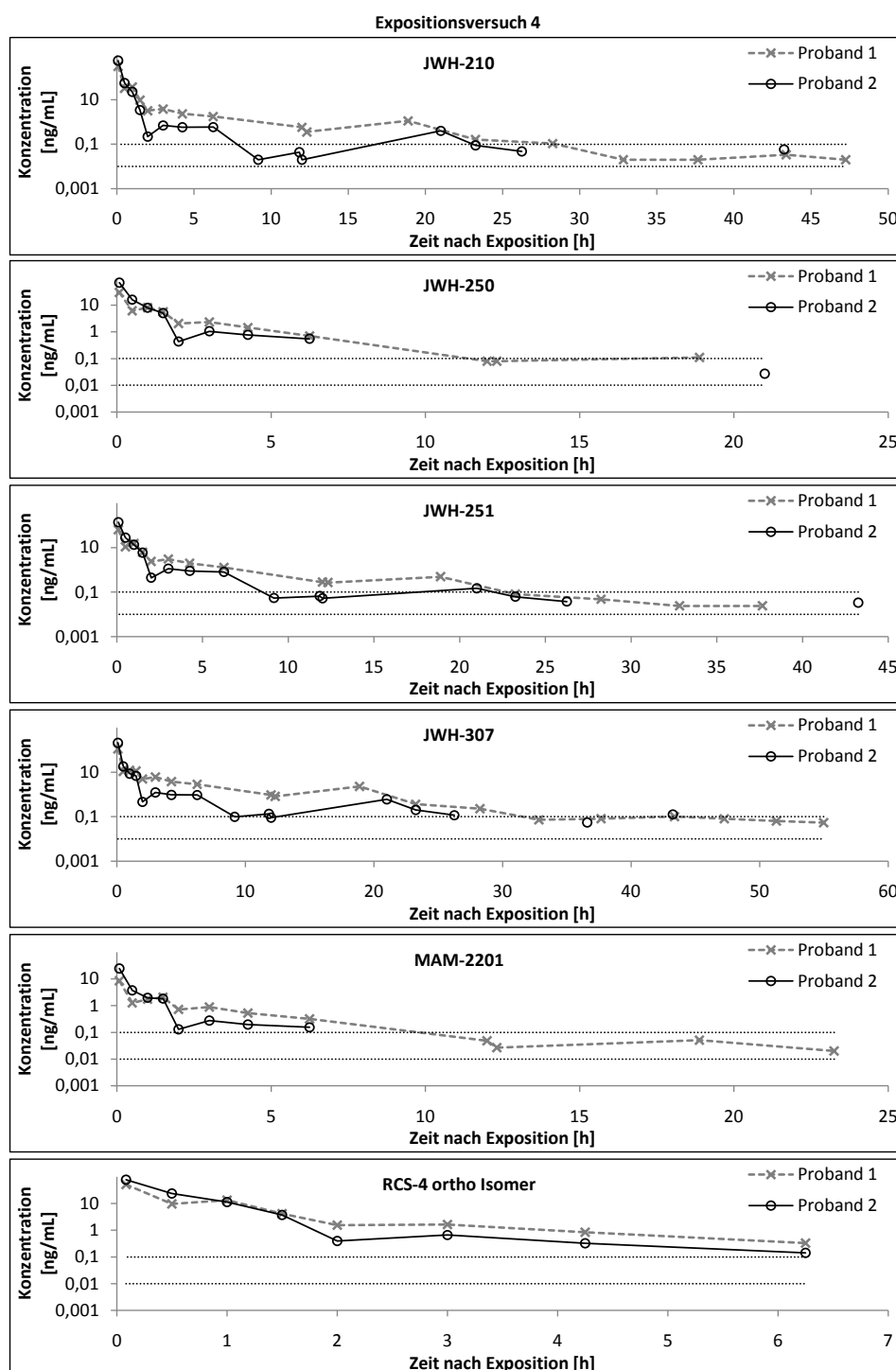


Abbildung 34 Konzentrationsprofile der synthetischen Cannabinoide JWH-210, JWH-250, JWH-251, JWH-307, MAM-2201 und dem *ortho* Isomer von RCS-4 in nOF. Die Proben wurden von zwei Probanden erhalten nachdem sie gegenüber Rauch eines Joints exponiert waren, der fünf verschiedene Räuchermischungen enthielt. Die gepunkteten Linien kennzeichnen die analytischen Grenzen der Nachweismethode: Obere Linie, LLOQ (0,20 ng/mL); untere Linie, LOD (0,02 ng/mL). Werte zwischen LLOQ und LOD sollten semiquantitativ betrachtet werden.

Die Ergebnisse des Expositionsversuches stimmen gut mit jenen überein, die von *Coulter et al.* beschrieben wurden. In ihrer Studie analysierten sie OF-Proben zweier Probanden, die zuvor JWH-018 haltige Räuchermischungen konsumiert hatten. Unter der Anwendung eines „reporting cut-off“ von 0,5 ng/mL, ermittelten sie ein Nachweisfenster von 5 bzw. 12 Stunden. Die während des Betrachtungszeitraumes festgestellten Maximalkonzentrationen beliefen sich auf 5 bzw. 30 ng/mL^[106].

Interessanterweise wurden vergleichbare OF-Konzentrationsprofile ebenfalls für THC beobachtet. So wurde in verschiedenen Studien, in denen mehrere Probanden kontrolliert eine standardisierte Menge Cannabis rauchten, ein rapider Abfall der THC-Konzentration in OF innerhalb weniger als einer Stunde beschrieben^[288, 289].

Der schnelle Abfall der im Expositionsversuch festgestellten Anfangskonzentrationen kann durch mehrere Faktoren erklärt werden. So wird eine Verringerung der OF-Konzentration bereits durch Reinigung der Mundhöhle verursacht, insbesondere durch das Verschlucken von Speichel sowie durch das Ausspülen des Mundraums im Vorfeld der Probennahme. Auf Grund der Tatsache, dass in der nach 3 Stunden nach Exposition abgenommenen Serumprobe keine synthetischen Cannabinoide nachgewiesen werden konnten, muss ferner davon ausgegangen werden, dass eine Umverteilung der Substanzen ins Blut weitestgehend ausblieb. Stattdessen wurden die Substanzen mit hoher Wahrscheinlichkeit von den Zellen der Mundschleimhaut absorbiert, was offenbar zur Entstehung eines „oralen Depots“ geführt hat. Die äußerst geringen Analytmengen (pg/mL-Bereich), die über einen langen Zeitraum detektierbar waren, können ferner auf eine Plateauphase zurückgeführt werden, die durch eine schrittweise Freisetzung der Substanzen aus diesem Depot charakterisiert ist. Mit Ausnahme von JWH-200 stellen die betrachteten synthetischen Cannabinoide äußerst schwache Basen dar und sind durch eine hohe Lipophilie gekennzeichnet. Da somit eine leichte Permeation durch die Membranen mukosaler Zellen ermöglicht wird, erscheinen diese Abläufe als sehr wahrscheinlich.

3.3.3.3 Schlussfolgerungen

Die obigen Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Transport synthetischer Cannabinoide aus dem Blut in OF und umgekehrt in sehr geringem Ausmaß erfolgt. Demzufolge gehen positive OF-Proben mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Detektion von

jenen Substanzmengen zurück, die während des Rauchens in die Mundhöhle des Konsumenten eingetragen wurden. Die daraus resultierenden, zum Teil vergleichsweise hohen Anfangskonzentrationen nehmen offenbar äußerst schnell und innerhalb nur weniger Minuten nach erfolgter Substanzaufnahme ab, woraufhin sich eine Plateauphase anschließt. In dieser können anschließend für einen längeren Zeitraum sehr geringe Analytmengen nachgewiesen werden, woraus eine Nachweisbarkeit über mehrere Stunden bis zu wenigen Tagen resultiert. Somit lässt sich anhand dieser Ergebnisse schlussfolgern, dass OF hervorragend geeignet ist, einen kurzzeitig zurückliegenden Konsum synthetischer Cannabinoide anzuzeigen und somit eine ausgezeichnete Alternative zur Analyse von Serumproben im Rahmen der Abstinenzkontrolle darstellt. Für Rückschlüsse hinsichtlich einer akuten Beeinträchtigung, beispielsweise im Rahmen von Straßenverkehrsdelikten, sind die festgestellten Nachweisfenster dagegen zu lang.

Obwohl die obigen Daten erste Einblicke in die Nachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in OF-Proben liefern, kann auf Grund der geringen Probandenzahl keine Aussage darüber gemacht werden, inwieweit interindividuelle Unterschiede die Nachweisfenster synthetischer Cannabinoide in OF-Proben gegebenenfalls beeinflussen. Zur Klärung dieser Fragestellung sind weitere Studien mit einem größeren Probandenkollektiv erforderlich.

3.3.4 Stabilität ausgewählter synthetischer Cannabinoide in authentischen nOF-Proben in Abhängigkeit des Probengefäßes

3.3.4.1 Einleitende Vorbetrachtungen

Obwohl synthetische Cannabinoide seit der Identifizierung ihrer ersten Vertreter in Räuchermischungen Gegenstand umfangreicher wissenschaftlicher Untersuchungen sind, existierten bis zur Anfertigung dieser Arbeit keine Daten zu ihrer Stabilität in authentischen nOF-Proben. Solche Daten sind von entscheidender Bedeutung angesichts der Tatsache, dass unsachgemäße Lagerungsbedingungen möglicherweise zu analytischen Problemen führen und die Interpretation von Analysenergebnissen erschweren können. Für das hochlipophile THC wurde beispielsweise bereits mehrfach demonstriert, dass die Adsorption an polymere Oberflächen erhebliche Analytverluste verursachen kann. *Christophersen et al.* untersuchten die Stabilität von THC in aufdotierten Vollblutproben während einer Lagerung in verschiedenen Gefäßmaterialien über vier Tage bei Raumtemperatur (20 bis 25 °C). Hierbei

beobachteten sie bei der Verwendung von Polypropylenröhrchen einen Analytverlust zwischen 60 und 100 %, während THC in Glasröhrchen stabil war^[290]. Erhebliche Adsorptionsverluste stellten ebenfalls *Blanc et al.* fest als sie Studien zur Stabilität von THC in Urinproben durchführten. Dies schrieben sie der Interaktion von THC mit Oberflächen von Plastikmaterialien zu (z. B. Pipetten und Probengefäße). Allerdings sollte beachtet werden, dass die THC-Wiederfindungen hierbei mit unspezifischen immunchemischen Methoden bestimmt wurden^[291]. In einer weiteren Studie untersuchten *Schwilke et al.* die Stabilität von THC in aufdotierten Vollblutproben, die in Polypropylengefäßen bei 4 und – 20 °C sowie Raumtemperatur gelagert wurden. Nach zwei Wochen beobachtete die Gruppe hierbei eine Abnahme der THC-Konzentration um ca. 25 % sowohl bei – 20 °C als auch bei Raumtemperatur, während die Lagerung bei 4 °C eine ausreichende Stabilität von THC gewährleistete^[292]. Ähnliche Studien wurden für THC mit aufdotierten nOF-Proben in Polypropylengefäßen durchgeführt. Untersuchungen von *Choi et al.* zufolge führte die Lagerung der Proben bei Raumtemperatur über sechs Tage zu sehr geringen THC-Wiederfindungen (ca. 15 %). Im Gegensatz dazu resultierte die Lagerung in Glasgefäßen in keinem signifikanten THC-Verlust^[293]. Darüber hinaus vermerkten *Molnar et al.* eine Abnahme der THC-Konzentration von bis zu 50 %, nachdem sie nOF-Proben zuvor mit THC aufdotiert, mit Phosphatpuffer verdünnt und anschließend über vier Wochen bei Raumtemperatur gelagert hatten^[286]. Ein weiteres Beispiel für die Tatsache, dass Adsorptionseffekte berücksichtigt werden müssen, wenn lipophile Analyten in den Kontakt mit Plastikmaterialien kommen, beschrieben *Kempf et al.*. In ihrer Studie, die sich mit der Stabilität von 11 häufig eingenommenen Benzodiazepinen bei Verwendung des DCD 5000 Probensammlers beschäftigte, beobachteten sie wesentliche Verluste aller untersuchten Benzodiazepine nach einer Lagerungszeit von 14 Tagen bei Raumtemperatur. Dies erklärten die Autoren durch die irreversible Adsorption der Analyten an das Polymermaterial des Probennehmers^[285].

Angesichts der gleichermaßen hohen Lipophilie der meisten bisher in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoide sollte deshalb untersucht werden, inwieweit Adsorptionseffekte bei der Lagerung von nOF-Proben unter verschiedenen Lagerungsbedingungen auftreten.

Für die Stabilitätsuntersuchungen wurde eine authentische nOF-Probe verwendet, die während des in Kapitel 3.3.3.2 dieses Abschnittes beschriebenen Expositionsversuches

erhalten wurde. Nach Verdünnung der Probe mit Leermatrix auf ein Endvolumen von insgesamt 12 mL wurde der hierbei entstandene Pool auf 3 verschiedene Gefäßtypen aliquotiert. Im Anschluss daran wurden die Proben bei 4 bzw. 25 °C über einen Zeitraum von 3 Tagen gelagert, um sowohl das typische Zeitintervall zwischen Probennahme und Ankunft der Probe im analysierenden Labor als auch die gängigen Temperaturbedingungen eines Probentransports zu simulieren. Zur Lagerung der nOF-Proben wurden Gefäße verschiedener Materialien verwendet. Gängige, zur Aufbewahrung von Proben verwendete Röhrchen aus Kalknatronsilikatglas dienten als Kontrollmaterial. Desweiteren wurde der aus hochwertigem Borosilikatglas bestehende nOF-Probensammler RapidEASE sowie ein aus Polypropylenmaterial bestehender nOF-Probensammler des Typs Saliva Split Collector der Firma Sciteck verwendet (siehe Abbildung 35). Die Wiederfindungen wurden jeweils nach 24 bzw. 72 Stunden bestimmt, wobei die untersuchten Analyten bei einer gemittelten Wiederfindung von $\pm 20\%$ der Anfangskonzentration als stabil betrachtet wurden. Das Studiendesign ist in detaillierter Form in Kapitel 5.5.7 des Teils Material und Methoden beschrieben.



Abbildung 35 Probensammler Saliva Split Collector der Firma Sciteck für nOF.

3.3.4.2 Ergebnisse

Nach dreitägiger Lagerung der nOF-Proben in beiden Glasgefäßen wurden über den gesamten Betrachtungszeitraum keine relevanten Instabilitäten festgestellt (Wiederfindungen: 84 – 114 %; RSD $\leq 12\%$). Somit konnten sowohl ein adsorptionsbedingter Analytverlust als auch eine Zersetzung der Analyten ausgeschlossen werden (siehe Tabelle 9). Die Wiederfindungen, die nach Lagerung in den Polypropylengefäßen erhalten wurden, sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 9 Gemittelte Wiederfindungen der 11 untersuchten synthetischen Cannabinoide in nOF nach Lagerung über 72 h in Kalknatronsilikatglas- und RapidEASE-Behältnissen bei 4 oder 25 ° C. Stabilitätskriterium: gemittelte Wiederfindung $\pm$ 20% der Anfangskonzentration (n=3).

Analyt	Kalknatronsilikatglas								RapidEASE							
	24 h				72 h				24 h				72 h			
	4 °C [%]	RSD [%]	25 °C [%]	RSD [%]	4 °C [%]	RSD [%]	25 °C [%]	RSD [%]	4 °C [%]	RSD [%]	25 °C [%]	RSD [%]	4 °C [%]	RSD [%]	25 °C [%]	RSD [%]
AM-2201	102	3,9	84	2,3	105	4,3	88	6,9	92	7,0	89	8,1	106	4,1	95	8,0
JWH-018	107	2,2	104	2,8	106	4,4	103	2,8	90	4,7	85	2,4	95	5,0	96	11,6
JWH-019	100	4,8	98	2,9	97	2,8	99	2,1	107	4,4	102	3,4	110	1,8	113	10,9
JWH-122	110	2,9	109	0,7	102	4,8	103	2,4	96	5,0	93	1,1	111	2,9	114	11,4
JWH-200	102	2,6	98	3,0	102	3,6	97	1,9	100	10,9	108	11,3	105	3,4	107	7,2
JWH-203	105	3,4	103	2,2	102	5,4	105	3,3	97	4,4	98	2,6	107	2,8	111	7,5
JWH-210	108	2,6	103	2,7	98	3,1	101	1,2	95	1,7	90	2,8	105	5,3	108	9,7
JWH-250	105	2,9	84	4,3	104	3,8	95	4,1	96	5,0	95	2,8	105	5,5	95	8,1
JWH-251	100	3,1	98	2,4	104	2,8	97	4,2	92	4,0	89	4,5	108	5,2	106	9,8
MAM-2201	103	4,6	102	2,1	103	2,2	105	4,8	93	4,5	89	3,6	89	5,0	91	5,7
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	96	3,0	97	1,2	99	5,4	96	5,2	104	3,3	107	3,8	107	5,0	109	5,7

Tabelle 10 Gemittelte Anfangskonzentrationen und Wiederfindungen der 11 synthetischen Cannabinoide in nOF nach Lagerung über 72 h in den Saliva Split Collector Behältnissen (Polypropylenmaterial) bei 4 oder 25 °C. Fettgedruckte Werte sind unterhalb des Stabilitätskriteriums (gemittelte Wiederfindung $\pm 20\%$ der Anfangskonzentration) und weisen somit deutlich auf Analytverluste durch Adsorptionseffekte hin (n=3).

Analyt	Anfangs- konzentration [ng/mL]	RSD [%]	24 h				72 h			
			4 °C [%]	RSD [%]	25 °C [%]	RSD [%]	4 °C [%]	RSD [%]	25 °C [%]	RSD [%]
AM-2201	0,37	6,3	94	10	63	16	100	9,6	46[#]	4,8
JWH-018	0,39	5,2	86	9,4	39[#]	15	85	12	26[#]	6,6
JWH-019	1,0	4,2	103	9,9	53	13	100	7,2	26	10
JWH-122	0,21	6,4	100	10	52[#]	10	105	11	45[#]	6,5
JWH-200	0,32	5,1	101	12	112	3,9	104	8,1	102	4,0
JWH-203	0,51	4,2	83	4,1	33[#]	17	79	11	23[#]	7,6
JWH-210	2,7	4,8	98	13	51	10	101	7,3	28	13
JWH-250	0,55	6,0	84	7,4	45	12	82	7,7	23[#]	6,5
JWH-251	0,94	3,0	77	6,7	29	14	75	12	9,1[#]	37
MAM-2201	0,54	2,5	92	9,8	65	11	89	14	46	5,8
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,45	6,2	95	8,0	65	8,3	106	14	54[#]	5,8

[#] Werte liegen unterhalb des LLOQ der Quantifizierungsmethode (0,20 ng/mL) und sollten deshalb als semiquantitativ betrachtet werden

Mit Ausnahme von JWH-251, bei dem leichte Verluste festgestellt wurden (Wiederfindung: 77 %; RSD 6,7 %), waren alle Analyten über 24 Stunden bei Lagerung im Polypropylengefäß bei 4 °C stabil (Wiederfindungen: 83 – 103 %; RSD $\leq$ 13 %). Ähnliche Resultate wurden nach dreitägiger Lagerung unter denselben Bedingungen erhalten. Mit Ausnahme von JWH-203 und JWH-251, für die eine leichte Abnahme der Analytkonzentrationen beobachtet wurde (Wiederfindungen: 79 bzw. 75 %; RSD $\leq$ 12 %), ergaben sich für keine der weiteren Analyten Hinweise auf relevante Instabilitäten (Wiederfindungen: 82 – 106 %; RSD $\leq$ 14 %).

Demgegenüber konnte bei allen Analyten, mit Ausnahme des verhältnismäßig hydrophilen JWH-200 (Wiederfindung: 112 %; RSD 3,9 %), bereits nach eintägiger Lagerung in den Polypropylengefäßen bei 24 °C eine beträchtliche Abnahme der Analytkonzentrationen festgestellt werden (Wiederfindungen: 29 – 65 %; RSD $\leq$ 17 %). Dieses Ergebnis kann mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Adsorption der Analyten an die Oberfläche des Polypropylenmaterials zurückgeführt werden, da eine Zersetzung unter den gewählten Untersuchungsbedingungen ausgeschlossen werden kann. Das Ausmaß des Analytverlustes bei 25 °C war nach einer Lagerungszeit von drei Tagen nochmals größer. Während JWH-200 erneut stabil war (Wiederfindung: 102 %; RSD 4,0 %), waren alle weiteren Analyten einer umfangreichen Adsorption an das Polypropylenmaterial unterworfen (Wiederfindungen: 9,1 – 54 %; RSD $\leq$ 37 %). In Abbildung 36 sind Stabilitätskurven, die bei der Lagerung in den Gefäßen des Typs Saliva Split Collector bei 25 °C erhalten wurden, exemplarisch für die Analyten JWH-018, JWH-019, JWH-210 sowie JWH-250 dargestellt.

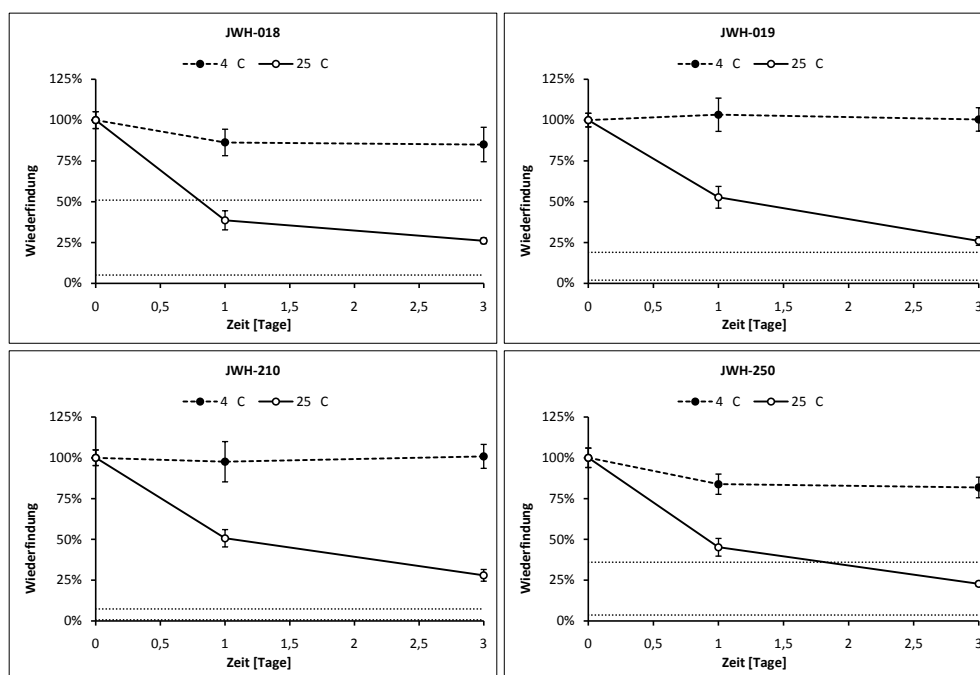


Abbildung 36 Mittlere Wiederfindungen von JWH-018, JWH-019, JWH-210 und JWH-250 in nOF-Proben, die über einen Zeitraum von 72 Stunden in Polypropylengefäßen bei 4 bzw. 25 °C gelagert wurden. Die gepunkteten Linien kennzeichnen die analytischen Grenzen der Quantifizierungsmethode: Obere Linie, LLOQ (0,20 ng/mL); untere Linie, LOD (0,02 ng/mL). Werte zwischen LLOQ und LOD sollten semiquantitativ betrachtet werden. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung vom Mittelwert (n=3).

3.3.4.3 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass lipophile synthetische Cannabinoide, die in einer nOF-Probe präsent sind, an die Oberfläche von Polypropylengefäßen adsorbieren, insofern die Probe ungekühlt versendet und gelagert wird. Allerdings stellt sich als Limitation des Studiendesigns dar, dass die Probengefäße einerseits während ihrer Lagerung nicht bewegt und andererseits Temperaturen oberhalb von 25 °C nicht untersucht wurden. Somit konnten keine komplett realistischen Bedingungen eines Probenverkehrs simuliert werden. Darüber hinaus konnte die Stabilität der betrachteten Analyten auf Grund des geringen Restvolumens der authentischen nOF-Probe lediglich bei verhältnismäßig geringen Konzentrationen untersucht werden. Daher war es nicht möglich, zu überprüfen, ob die Adsorptionsprozesse sättigbar und somit bei deutlich höheren Probenkonzentrationen von untergeordneter Bedeutung sind.

Dagegen haben die Ergebnisse in Kapitel 3.3.3.2 dieses Abschnittes deutlich gezeigt, dass nach einem Konsum synthetischer Cannabinoide mit geringen OF-Konzentrationen gerechnet werden muss, insofern die Probennahme nicht in enger zeitlicher Nähe zum Konsumzeitpunkt erfolgt. In Zusammenschau dieser Resultate kann die unsachgemäße

Lagerung von nOF-Proben zu falsch-negativen Analysenergebnissen führen. Demnach muss vor der Abnahme von nOF-Proben, die auf synthetische Cannabinoide getestet werden sollen, überprüft werden, ob sich der zur Anwendung beabsichtigte Probennehmer hierfür überhaupt eignet. So wird gewährleistet, dass relevante Analytverluste infolge umfangreicher Adsorptionseffekte ausgeschlossen und falsch-negative Ergebnisse vermieden werden. Generell ist für die nOF-Probennahme die Verwendung von Glasmaterialien zu empfehlen. Für den Fall, dass trotzdem Polypropylenmaterialien zur Anwendung kommen, sollten die Proben zwingend gekühlt versendet und gelagert werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Im Dezember des Jahres 2008 wurden in der Räuchermischung „Spice“ mit dem C₈-Homologen von CP-47,497 sowie JWH-018 erstmals synthetische Cannabinoide entdeckt, die als Agonisten am CB₁-Rezeptor wirken. In Internetforen wurde zuvor mehrfach von cannabisähnlichen Effekten nach inhalativem Konsum dieser und vergleichbarer Mischungen berichtet. Ursprünglich von der Pharmaindustrie als potentielle Alternativen zu Analgetika und nichtsteroidalen Antirheumatika entwickelt, werden synthetische Cannabinoide heutzutage auf getrocknetes Pflanzenmaterial aufgebracht und dieses in Form von Räuchermischungen als Cannabisersatz verkauft. Der Missbrauch dieser Mischungen als Rauschmittel führt vermehrt zu klinischen Notfällen und stellt insbesondere die Arbeitsgebiete der Forensik vor immense Herausforderungen.

Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Identifizierung von neuen synthetischen Cannabinoiden in Räuchermischungen. Hierfür wurden in einem Zeitraum von Januar 2010 bis Dezember 2012 fast 400 solcher Produkte qualitativ mittels GC/MS untersucht. Es zeigte sich, dass allein in diesem Zeitabschnitt mehr als 25 neuartige synthetische Cannabinoide in Räuchermischungen nachgewiesen werden konnten. Umfangreiche Verschiebungen hinsichtlich des Substanzspektrums ergaben sich innerhalb des Untersuchungszeitraumes vor allem nachdem der Gesetzgeber die Unterstellung einzelner synthetischer Cannabinoide unter das BtMG ankündigte oder letztlich umsetzte. Es wurde deutlich, dass die Produzenten solcher Substanzen durch Kombination der für eine cannabisähnliche Wirkung wichtigsten Pharmakophore in der Lage sind, unzählige neuartige synthetische Cannabinoide zu kreieren. Auf Grund dieser strukturellen Vielfalt ist es ihnen somit möglich, dem Gesetzgeber sowie sämtlichen Instanzen der Strafverfolgung stets einen Schritt voraus zu sein. Einzelne Fallbeispiele zeigten eindeutig, dass auf Grund der umfangreichen Substanzvielfalt zunehmend analytische Herausforderungen bei der Identifizierung neuartiger synthetischer Cannabinoide auftreten. Problematisch sind vor allem nebeneinander vorliegende isobare Verbindungen, die sich physikochemisch nur minimal unterscheiden und bei nicht ausreichender chromatographischer Trennung zu Mischspektren führen. Folglich bedarf es zur sicheren Identifizierung neuartiger synthetischer Cannabinoide häufig der Kombination mehrerer aufwändiger analytischer Verfahren. Über die hierfür erforderliche instrumentell-analytische Ausstattung verfügen nur wenige Institutionen. Anhand der enormen

Substanzdynamik, die im Rahmen des Beobachtungszeitraumes vermerkt wurde, ist ferner ersichtlich, dass eine stufenweise Einzelunterstellung von synthetischen Drogenwirkstoffen unter das BtMG das Auftauchen neuer Ersatzstoffe auf dem Drogenmarkt vielmehr verstärkt anstatt zu unterbinden.

Der zweite Teil dieser Arbeit befasste sich mit der Entwicklung einer LC/ESI-MS/MS-Methode für den Nachweis von synthetischen Cannabinoiden in humanen Blutserumproben sowie deren Anwendung im Rahmen der forensisch-toxikologischen Fallarbeit. Die Methode wurde schrittweise an die sich regelmäßig ändernde Marktsituation angepasst und nach forensischen Richtlinien validiert. Die Validierung ergab, dass mit der Methode ein empfindlicher Nachweis der Substanzen im unteren ng/mL Bereich möglich ist. Im Laufe der praktischen Arbeiten wurde die Methode zur Analyse von über 3000 authentischen Serumproben verwendet. Es zeigte sich, dass während des dreijährigen Untersuchungszeitraumes insgesamt 27 verschiedene synthetische Cannabinoide innerhalb des Untersuchungsgutes nachgewiesen werden konnten. Die hierbei festgestellten medianen Serumkonzentrationen von $\leq 1,1$ ng/mL machen deutlich, dass für den Nachweis synthetischer Cannabinoide in Blutproben hochempfindliche Analysenverfahren erforderlich sind. Die enorme Substanzfluktuation beweist, dass Nachweisverfahren jederzeit die aktuelle Lage des Drogenmarktes abbilden müssen, um eine Aufnahme von synthetischen Cannabinoiden mit hoher Sicherheit ausschließen zu können. Hiermit sind jedoch sowohl hohe Anforderungen an analytische Methoden als auch ein erheblicher personeller Aufwand verbunden. Demnach ist auf Grund der enormen Anzahl bereits in Räuchermischungen identifizierter Substanzen mittlerweile häufig ein Kompromiss zwischen Leistungsfähigkeit und Kosteneffizienz einer Nachweismethode erforderlich.

Die toxikologische Evaluierung von 29 klinischen Notfällen zeigte eindrücklich, dass der Konsum synthetischer Cannabinoide zu lebensbedrohlichen Zuständen führen kann und mit diesem - verglichen mit dem Konsum von Cannabis - eine deutlich höhere Gesundheitsgefahr einhergeht. Zwar ähnelte der Großteil der beobachteten Symptome weitgehend einer Cannabisintoxikation. Doch erscheinen die in der betrachteten Fallserie besonders häufig aufgetretenen Symptome wie Erbrechen, (generalisierte) Krampfanfälle, starke Unruhe sowie Hypokaliämie eher spezifisch für eine Intoxikation mit synthetischen Cannabinoiden zu sein.

Die Analyse von Blutproben im Rahmen von Straßenverkehrsdelikten belegte, dass der Konsum von synthetischen Cannabinoiden zu Ausfallerscheinungen führen kann, die mit dem

sicheren Führen eines Kraftfahrzeugs nicht vereinbar sind. Demnach sollte ein entsprechender Konsum dieser Substanzen bei der forensisch-toxikologischen Analyse von Straßenverkehrsproben stets in Betracht gezogen und, falls erforderlich, entsprechend analytisch überprüft werden.

Untersuchungen zur Langzeitnachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in Serumproben ergaben, dass lipophile Vertreter wie beispielsweise AM-2201 oder JWH-210 bei Verwendung empfindlicher Nachweisverfahren bereits nach einmaliger Aufnahme über mehrere Tage im Serum nachgewiesen werden können. Nach dauerhaftem und/oder exzessivem Konsum wurden Nachweisfenster von bis zu mehreren Wochen beobachtet. Ursächlich für die lange Nachweisbarkeit ist mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Umverteilung dieser Substanzen in tiefe, fettreiche Kompartimente. Die sich aus der langen Nachweisbarkeit für die Interpretation positiver Befunde ergebenden Konsequenzen sind weitreichend. So müssen niedrige Serumkonzentrationen, die im Zusammenhang mit Straßenverkehrsdelikten auftreten, nicht zwingend mit einer akuten und für den Tathergang relevanten Wirkung assoziiert sein. Im Rahmen einer Abstinenzüberwachung bedarf es zur Beurteilung, ob ein Patient wiederholt synthetische Cannabinoide konsumiert hat, einer sorgfältigen Interpretation der Analysenergebnisse. Solange in aufeinanderfolgenden Proben eines Patienten weder neue Substanzen noch beträchtlich ansteigende Substanzkonzentrationen nachgewiesen werden können, sollten niedrige Serumkonzentrationen in positiven Folgeproben daher als Konsequenz einer langen terminalen Eliminationshalbwertszeit angesehen werden. In solchen Fällen darf im Zweifelsfall also nicht automatisch von einem wiederholten Konsum ausgegangen werden. Idealerweise sollte die Analyse von Serumproben in regelmäßigen Abständen erfolgen, um Konzentrationsverläufe genau verfolgen zu können. Inwieweit diese Beobachtungen auf alle bisher in Räuchermischungen vorgefundenen synthetischen Cannabinoide zutreffen, gilt es zukünftig zu untersuchen.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit dem Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen OF-Proben. Hierfür wurde zunächst eine Methode zur Extraktion dieser Substanzen aus der Probenmatrix OF entwickelt. Für den massenspektrometrischen Nachweis konnte auf die bereits entwickelte LC/ESI-MS/MS-Methode zurückgegriffen werden. Zur Abnahme authentischer OF-Proben wurde der DCD 5000 Probensammler der Firma Dräger verwendet. Das Nachweisverfahren wurde zunächst forensisch validiert, wobei

sich zeigte, dass die erfassten Analyten ebenfalls hochempfindlich in OF nachgewiesen werden können. Die Analyse von 26 authentischen Fällen, bei denen neben einer OF-zeitgleich eine Serumprobe abgenommen wurde, ergab eine hervorragende Übereinstimmung der qualitativen Analyseergebnisse beider Matrices. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass sich die Analytik von OF in Fällen, in denen eine Blutabnahme nicht realisierbar oder nicht erwünscht ist, als geeignete Alternative zur Blutanalytik anbietet.

Die Ergebnisse anschließender Studien zur allgemeinen Nachweisdauer synthetischer Cannabinoide in nOF weisen darauf hin, dass positive OF-Proben mit hoher Wahrscheinlichkeit vorwiegend auf der Detektion von jenen Substanzmengen basieren, die während des Rauchens in die Mundhöhle des Konsumenten eingetragen werden. Nach rapidem Abfall der vergleichsweise hohen Anfangskonzentrationen konnten die untersuchten synthetischen Cannabinoide über mehrere Stunden bis hin zu wenigen Tagen in nOF nachgewiesen werden. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich schlussfolgern, dass OF geeignet ist, einen kurzzeitig zurückliegenden Konsum synthetischer Cannabinoide anzuzeigen. Bei OF handelt es sich somit um eine vielversprechende Alternative zur Analyse von Serumproben im Rahmen der Abstinenzkontrolle in klinischen oder forensischen Einrichtungen.

Untersuchungen zur Stabilität ausgewählter synthetischer Cannabinoide in authentischen nOF-Proben in Abhängigkeit des Probengefäßes zeigten, welcher Stellenwert einer sachgemäßen Lagerung von nOF-Proben zukommt, in denen möglicherweise synthetische Cannabinoide präsent sind. So konnte demonstriert werden, dass lipophile synthetische Cannabinoide bei ungekühlter Lagerung der nOF-Probe in erheblichem Umfang an die Oberfläche von Polypropylengefäßen adsorbieren und einer Analytik somit entzogen werden. Bei ebenfalls untersuchten Glasmaterialien wurde dies nicht beobachtet. Es ist somit erforderlich, die Eignung der zur Lagerung entsprechender nOF-Proben beabsichtigten Polypropylengefäße vor ihrer ersten Anwendung zu überprüfen, um falsch-negative Analyseergebnissen vorzubeugen.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, tiefere Einblicke in das Phänomen der synthetischen Cannabinoide sowie wichtige Informationen zu deren Nachweis in forensisch relevanten Matrices zu erhalten. Mit den während der praktischen Arbeiten entwickelten Analysenverfahren stehen der klinischen und forensischen Toxikologie nun Methoden zur Verfügung, um den Großteil der bisher in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoide in authentischen Serum- sowie OF-Proben nachzuweisen. Durch die

Anwendung dieser Methoden zur Analyse zahlreicher authentischer Proben ist es gelungen, wichtige Kenntnisse zur (Langzeit-) Nachweisbarkeit dieser Substanzen in Serum und OF zu erwerben. Hierdurch wurde ein entscheidender Beitrag zur korrekten Interpretation positiver Analysenbefunde erbracht. Darüber hinaus erleichtern diese Daten künftig die Auswahl einer fallspezifisch geeigneten Analysenmatrix, wenn der Verdacht auf den Konsum von synthetischen Cannabinoiden besteht. Die Ergebnisse der toxikologischen Evaluierung von klinischen Notfällen ermöglichte eine Beurteilung dieser Substanzen hinsichtlich ihres Gefahrenpotentials. Hiermit wurden dem Gesetzgeber Argumente geliefert, einzelne Vertreter der synthetischen Cannabinoide unter das BtMG zu stellen. Ferner sind Institutionen aus den Bereichen Prävention und Rehabilitation nun in der Lage, (potentielle) Konsumenten fundiert über die Gesundheitsrisiken, die mit dem Konsum von synthetischen Cannabinoiden einhergehen, aufzuklären. Für medizinisches Personal werden dadurch die Voraussetzungen geschaffen, eine Intoxikation mit synthetischen Cannabinoiden leichter zu erkennen und entsprechend schneller behandeln zu können. Durch Anwendung der entwickelten Analysemethoden in der täglichen Fallarbeit wurde dazu beigetragen, Straßenverkehrsdelikte verstärkt aufzuklären. Zusätzlich wurde durch den Einsatz der Nachweisverfahren zur Abstinenzkontrolle die qualifizierte Entzugsbehandlung von Drogenabhängigen in Therapieeinrichtungen unterstützt. Die zeitnahe Identifizierung neuartiger synthetischer Cannabinoide im Rahmen des Monitorings von Räuchermischungen war der entscheidende Faktor, das Substanzspektrum der entwickelten Analyseverfahren an die aktuelle Situation auf dem Drogenmarkt anpassen zu können. Des Weiteren konnten strafverfolgenden Institutionen somit wichtige analytische Informationen zur Verfügung gestellt werden, die die Identifizierung von neuen Substanzen auf dem Drogenmarkt beschleunigen. Auch hierdurch wurde ein wichtiger Beitrag zur Erleichterung der Strafverfolgung erbracht.

Auf Grund der vielfältigen Möglichkeiten, mittels kombinatorischer Chemie neuartige synthetische Cannabinoide zu synthetisieren, ist in naher Zukunft nicht mit einem Rückgang dieser Problematik zu rechnen. Angesichts der großen Forschungsaktivität auf dem Gebiet der Entwicklung von CB-Agonisten gilt es vielmehr als wahrscheinlich, dass früher oder später neue Leitstrukturen gefunden werden, die wiederum Eingang in den Drogenmarkt finden. Für die Konsumenten dieser Substanzen ist dies gleichbedeutend mit nicht absehbaren gesundheitlichen Risiken. Unter analytischen Aspekten ist ferner davon

auszugehen, dass einzelne Multi-Analyten-Methoden wegen der hohen strukturellen Vielfalt der in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoide vor allem chromatographisch an ihre Leistungsgrenzen stoßen werden. Mit der Substanz JWH-176 (siehe Abbildung 2) aus der Gruppe der Alkylindene ist bereits eine CB₁-hochaffine Substanz bekannt, die innerhalb der Molekülstruktur keine Heteroatome aufweist und deshalb mit hoher Wahrscheinlichkeit mit LC/MS(/MS)-Methoden nicht ausreichend empfindlich in biologischen Proben nachgewiesen werden kann. Somit könnte es bei Vorfinden dieser oder strukturell vergleichbarer Substanzen zukünftig erforderlich sein, mehrere analytische Methoden für einen sicheren und empfindlichen Nachweis der verschiedenen Substanzen zu entwickeln und vorzuhalten.

Um mit dem sich rapide ändernden Drogenmarkt Schritt halten zu können, wird es in Zukunft weiterhin nötig sein, ein umfangreiches Monitoring von Räuchermischungen durchzuführen. Für die Erleichterung und Beschleunigung von Identifizierungsprozessen ist es hierbei von großer Wichtigkeit, dass die daran beteiligten Institutionen sowohl national als auch international eng zusammenarbeiten. Speziell die zeitnahe Veröffentlichung und vereinfachte Zugänglichkeit von analytischen Daten wie GC/EI-MS-Spektrenbibliotheken ist von besonderer Bedeutung. Die nicht rechtzeitige Verfügbarkeit von Referenzstandards ist für die Fallarbeit häufig stark limitierend. Demnach wäre es zu begrüßen, wenn nach behördlicher Sicherstellung von großen Reinsubstanzmengen entsprechende Teilmengen auch über Ländergrenzen hinaus an Instanzen der Strafverfolgung verteilt werden würden. Hierdurch könnten Nachweisverfahren noch schneller an neue Marktsituationen angepasst werden.

Zum Schutz von (potentiellen) Konsumenten ist es künftig erforderlich, dass Institutionen aus den Bereichen Prävention und Rehabilitation verstärkt über Gesundheitsrisiken informieren, die mit dem Missbrauch von synthetischen Cannabinoiden verbunden sind. Hiermit könnte die Nachfrage nach diesen Substanzen möglicherweise reduziert werden.

Obwohl seit Jahren kontrovers diskutiert, bestünde bei einer Legalisierung von Cannabis insbesondere für viele Cannabiskonsumenten kein Grund mehr, auf unbekannte synthetische Substanzen auszuweichen und sich somit unabsehbaren Gesundheitsrisiken auszusetzen. Da eine Legalisierung von Cannabis in naher Zukunft in Deutschland nicht zu erwarten ist, muss davon ausgegangen werden, dass die Problematik der synthetischen Cannabinoide als Missbrauchsdroge sowohl für die Gesellschaft als auch für die Wissenschaft von enormer Bedeutung bleiben wird.

MATERIAL UND METHODEN

1 Chemikalien und Standardsubstanzen

Tabelle 11 Chemikalien, die während der praktischen Arbeiten verwendet wurden.

Chemikalien		
Acetonitril	J.T. Baker	Deventer, Niederlande
Ameisensäure	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Ammoniumformiat	Sigma-Aldrich	Steinheim, Deutschland
Chloroform	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Chloroform, deuteriert	Euriso-Top	Saint-Aubin, Frankreich
Cyclohexan	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Diethylamin	Merck	Darmstadt, Deutschland
Ethanol	Sigma-Aldrich	Steinheim, Deutschland
Ethylacetat	Sigma-Aldrich	Steinheim, Deutschland
Methanol	J.T. Baker	Deventer, Niederlande
Methyl- <i>tert</i> -butylether (MTBE)	Sigma-Aldrich	Steinheim, Deutschland
Natriumcarbonat	Merck	Darmstadt, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Natriumhydroxid	Riedel-de-Haen	Seelze, Deutschland
Natriumsulfat, getrocknet	Merck	Darmstadt, Deutschland
<i>n</i> -Hexan	Merck	Darmstadt, Deutschland
<i>n</i> -Propanol	Merck	Darmstadt, Deutschland
Phenyltrimethylammoniumhydroxid-Lösung (0,1 M in Methanol)	Fluka	Steinheim, Deutschland
Salzsäure (37 %)	Sigma-Aldrich	Steinheim, Deutschland
Silicapulver	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Wasser, deionisiert	Kartuschen-Ionenaustauscher von Memtech	Moorenweis, Deutschland

Tabelle 12 Standardsubstanzen, die während der praktischen Arbeiten verwendet wurden.

Standardsubstanzen		
AB-001	isoliert aus Räuchermischung ^[76]	
AKB48	Finnish Customs Laboratory	Espoo, Finnland
AKB48-5F	Finnish Customs Laboratory	Espoo, Finnland
AM-1220	isoliert aus „Research Chemical“ ^[294]	
AM-1220 Azepan-Isomer	isoliert aus „Research Chemical“ ^[294]	
AM-1248	Cayman Chemical	
AM-2201	als „Research Chemical“ erworben	
AM-2232	Cayman Chemical	
AM-2233	Finnish Customs Laboratory	Espoo, Finnland
AM-694	als „Research Chemical“ erworben	
APICA	School of Pharmacy & Biomolecular Sciences, John Moores University	Liverpool, Großbritannien
CRA-13	iKem BT	Budapest, Ungarn
JWH-007	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA

Standardsubstanzen		
JWH-015	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-018	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
JWH-019	Finnish Customs Laboratory	Espoo, Finnland
JWH-020	Bundeskriminalamt	Wiesbaden, Deutschland
JWH-073	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
JWH-081	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-122	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-200	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-203	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-210	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-250	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-251	als „Research Chemical“ erworben	
JWH-307	Finnish Customs Laboratory	Espoo, Finnland
JWH-370	Landeskriminalamt Schleswig-Holstein	Kiel, Deutschland
JWH-387	Landeskriminalamt Baden-Württemberg	Stuttgart, Deutschland
JWH-398	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
JWH-412	Landeskriminalamt Baden-Württemberg	Stuttgart, Deutschland
MAM-2201	isoliert aus Räuchermischung ^[77]	
Methanandamid	Sigma-Aldrich	Steinheim, Deutschland
RCS-4	als „Research Chemical“ erworben	
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	Landeskriminalamt Niedersachsen	Hannover, Deutschland
RCS-8	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
STS-135	Finnish Customs Laboratory	Espoo, Finnland
UR-144	als „Research Chemical“ erworben	
UR-144 Isomer	hergestellt nach <i>Shevyrin et al.</i> ^[88]	
WIN 48,098	als „Research Chemical“ erworben	
WIN 55,212-2	Bundeskriminalamt	Wiesbaden, Deutschland
XLR-11	als „Research Chemical“ erworben	
XLR-11 Isomer	hergestellt nach <i>Shevyrin et al.</i> ^[88]	
<i>D</i> ₉ -JWH-007	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₇ -JWH-015	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₁₁ -JWH-018	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<i>D</i> ₉ -JWH-073	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<i>D</i> ₉ -JWH-081	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₉ -JWH-122	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₉ -JWH-210	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₅ -JWH-200	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₅ -JWH-250	Cayman Chemical	Ann Arbor, MI, USA
<i>D</i> ₇ -Flunitrazepam	LGC Standards	Wesel, Deutschland
<i>D</i> ₃ -11-Hydroxy- Δ^9 -tetrahydro-cannabinol (<i>D</i> ₃ -11-OH-THC)	LGC Standards	Wesel, Deutschland

Der Erstbezug vieler für diese Arbeit verwendeten synthetischen Cannabinoide erfolgte in kristalliner Form entweder als „Research Chemical“ oder durch behördliche Sicherstellungen (z. B. Bundeskriminalamt, Landeskriminalämter, finnischer Zoll). Identität und Reinheit wurden mittels DC, GC/MS und NMR bestätigt (Reinheit jeweils ≥ 98 %).

2 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 13 Verbrauchsmaterialien, die während der praktischen Arbeiten verwendet wurden.

Verbrauchsmaterialien		
DC	Normalphasen-DC-Platten (Kieselgel 60, 20 x 10 cm, F256)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Speichelsammler	DCD 5000	Dräger Safety, Lübeck, Deutschland
	Salivette	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
	RapidEASE	Biophor Diagnostics, Redwood City, CA, USA
	Saliva Split Collector	Sciteck, Arden, NC, USA

3 Geräte, Analysensysteme und Software

Tabelle 14 Während der praktischen Arbeiten verwendete Geräte und Analysensysteme.

Geräte und Analysensysteme		
Feinwaage	XS 205	Mettler-Toledo, Gießen, Deutschland
Flash-Chromatographie	CombiFlash® Rf (Version 1.5.14) mit Fraktionssammler (Version 00.00.49) Säule: 13 g RediSep® Rf C ₁₈ Rf Leerkartuschen zur Probenaufgabe	Teledyne Isco, Lincoln, USA
Heizblock	Evaporator	Liebisch, Bielefeld, Deutschland
Rotationsverdampfer	Rotavapor RE 111 Wasserbad 461 Membranvakuum-Pumpe: MZ 20	Büchi, Flawil, Schweiz
Trockenschrank	Heraeus	Vacuubrand GmbH, Wertheim, Deutschland
Überkopfmischer	Reax 2	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
Vakuumkonzentrator	Konzentrator: Christ Alpha RVC Liquid Trap: Christ LT-105	Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland
Vortexer	Reax top	Martin Christ GmbH, Osterode, Deutschland
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 3.0R	Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland
GC/MS	GC: 6890 MS: 5973 Injektor: 7683B Säule: HP-5-MS (30 m x 25 mm x 0,25 µm) Software: ChemStation G1701GA (Version: D.03.00611)	Thermo Scientific, Schwerte, Deutschland
LC/MS/MS	Pumpen: LC-20ADsp Autosampler: SIL-20AC	Agilent, Waldbronn, Deutschland
		Shimadzu, Duisburg, Deutschland

Geräte und Analysensysteme		
LC/HR-MS/MS	Entgaser: DGU-20A3	
	Säulenofen: CTO-20AC	
	Controller: CBM-20A	
	QTrap 4000 Triple-Quadrupole Tandem-Massenspektrometer mit linearer Ionenfalle und TurbolonSpray Interface	AB Sciex, Darmstadt, Deutschland
	Software: Analyst 1.5.1	
LC/HR-MS/MS	Säule: Luna Phenyl Hexyl (50 x 2 mm, 5 µm)	Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland
	Vorsäule: Luna Phenyl Hexyl (4 x 2 mm)	
	HPLC: 1200 SL	Agilent, Santa Clara, CA, USA
	Q-TOF-MS: 6530	
	Software: MassHunter Acquisition (Version B.02.01) sowie MassHunter Qualitative Analysis (Version: B.03.01)	
NMR	Säule: C ₁₈ (150 x 2 mm, 5 µm)	Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland
	Vorsäule: C ₁₈ (4 x 2 mm)	
	DRX-400	Bruker Biospin, Rheinstetten, Deutschland

Tabelle 15 Während der praktischen Arbeiten verwendete Software.

Software		
GC/MS	ChemStation G1701GA (Version: D.03.00611)	Agilent, Waldbronn, Deutschland
LC/MS/MS	Analyst (Version: 1.5.1)	AB Sciex, Darmstadt, Deutschland
NMR	Topspin (Version: 2.1)	Bruker Biospin, Rheinstetten, Deutschland
	MS Excel (Version: 2007)	Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA
	Valistat (Version: 2.0)	Arvecon GmbH, Walldorf, Deutschland

4 Reagenzien und Lösungen

4.1 Laufmittel für Dünnschichtschromatographie

Zur Herstellung der mobilen Phase wurden 45 mL Cyclohexan mit 5 mL Diethylamin gemischt.

4.2 Laufmittel A₁ für Flash-Chromatographie

Zur Herstellung der mobilen Phase A₁ wurden 5,5 mL Ameisensäure in einen 1 L Messkolben gegeben und dieser anschließend bis zur Eichmarke mit deionisiertem Wasser aufgefüllt.

4.3 Natriumcarbonat-Lösung (0,1 M)

Zur Herstellung der 0,1 molaren Natriumcarbonat-Lösung wurden 10,6 g Natriumcarbonat in einen 1 L Messkolben gegeben und dieser anschließend bis zur Eichmarke mit deionisiertem Wasser aufgefüllt.

4.4 Natriumhydrogencarbonat-Lösung (0,1 M)

Zur Herstellung der 0,1 molaren Natriumhydrogencarbonat-Lösung wurden 8,4 g Natriumhydrogencarbonat in einen 1 L Messkolben gegeben und dieser anschließend bis zur Eichmarke mit deionisiertem Wasser aufgefüllt.

4.5 Carbonatpuffer (pH 10)

Zur Herstellung des Carbonatpuffers wurden 534 mL der 0,1 M Natriumcarbonat-Lösung mit 466 mL der 0,1 M Natriumhydrogencarbonat-Lösung gemischt.

4.6 Gemisch zur flüssig-flüssig-Extraktion synthetischer Cannabinoide aus humanen Serum- und OF-Proben

Zur Herstellung des Extraktionsgemisches wurden 990 mL *n*-Hexan und 10 mL Ethylacetat gemischt (99:1, V/V).

4.7 Laufmittel A₂ für LC/ESI-MS/MS-Analytik

Zur Herstellung der mobilen Phase A₂ wurden zunächst 1,261 g Ammoniumformiat in einen 1 L Messkolben eingewogen, 2 mL Ameisensäure hinzugefügt und mit deionisiertem Wasser bis zur Eichmarke aufgefüllt. Im Anschluss wurden 100 mL dieser Lösung 1:10 (V/V) mit deionisiertem Wasser verdünnt.

4.8 Stamm- und Arbeitslösungen

Stammlösungen aller in Tabelle 16 aufgeführten synthetischen Cannabinoide und internen Standards (ISTDs) wurden zu 1 mg/mL in Ethanol hergestellt. Für die Entwicklung und Validierung der LC/ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serum- und OF-Proben wurden folgende Analyt- und ISTD-Arbeitslösungen aus den Stammlösungen durch adäquate Verdünnungsschritte hergestellt.

Tabelle 16 Übersicht über die Analyt- und ISTD-Arbeitslösungen, die während der praktischen Arbeiten verwendet wurden.

Analyt	„Mix Stock“ [µg/mL]	„Mix Se ₁ “ „Mix DCD ₁ “ [µg/mL]	„Mix Se ₂ “ „Mix DCD ₂ “ [µg/mL]	„Mix DCD ₃ “ [ng/mL]	„Mix OF ₁ “ [µg/mL]	„Mix OF ₂ “ [ng/mL]	„IS _{Se} “ [ng/mL]	„IS _{DCD} “ [ng/mL]	„IS _{OF} “ [ng/mL]
AB-001	20	2,0	0,20	50	-	-	-	-	-
AM-1220	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
AM-2201	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
AM-2233	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
AM-694	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
CRA-13	40	4,0	0,40	100	-	-	-	-	-
JWH-007	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-015	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-018	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-019	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-020	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-073	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-081	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-122	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-200	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-203	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-210	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-250	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-251	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-307	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
JWH-387	20	2,0	0,20	50	0,40	40	-	-	-
JWH-398	5,0	0,5	0,05	12,5	0,10	10	-	-	-
JWH-412	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
MAM-2201	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
Methanandamid	5,0	0,5	0,05	12,5	0,10	10	-	-	-
RCS-4	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
RCS-8	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
WIN 48,098	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-

Analyt	,Mix Stock' [µg/mL]	,Mix Se ₁ ' ,Mix DCD ₁ ' [µg/mL]	,Mix Se ₂ ' ,Mix DCD ₂ ' [µg/mL]	,Mix DCD ₃ ' [ng/mL]	,Mix OF ₁ ' [µg/mL]	,Mix OF ₂ ' [ng/mL]	,IS _{Se} ' [ng/mL]	,IS _{DCD} ' [ng/mL]	,IS _{OF} ' [ng/mL]
WIN 55,212-2	1,0	0,1	0,01	2,5	0,02	2,0	-	-	-
Interne Standards									
D ₉ -JWH-007	-	-	-	-	-	-	50	50	12,5
D ₇ -JWH-015	-	-	-	-	-	-	25	25	12,5
D ₁₁ -JWH-018	-	-	-	-	-	-	50	50	12,5
D ₉ -JWH-073	-	-	-	-	-	-	25	25	25
D ₉ -JWH-081	-	-	-	-	-	-	50	50	17,5
D ₉ -JWH-122	-	-	-	-	-	-	75	75	15
D ₅ -JWH-200	-	-	-	-	-	-	100	100	30
D ₉ -JWH-210	-	-	-	-	-	-	200	100	50
D ₅ -JWH-250	-	-	-	-	-	-	50	50	25
D ₉ -JWH-398	-	-	-	-	-	-	-	-	125
D ₉ -RSC-4	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5
D ₇ -Flunitrazepam	-	-	-	-	-	-	2500	-	-
D ₃ -11-OH-THC	-	-	-	-	-	-	2500	-	-

5 Experimentelle und präparative Arbeiten

5.1 Aufarbeitung der Räuchermischungen

Zur Extraktion etwaig vorhandener Substanzen von der Oberfläche des Pflanzenmaterials wurden 100 mg der Räuchermischung zunächst in ein Glasröhrchen eingewogen. Nach Zugabe von 1 mL Ethanol wurde der Ansatz für ca. 10 s gevortexed und bei 3400 x g für 5 min zentrifugiert. 10 µL des Überstandes wurden in ein Glas-Vial überführt und bei 40 °C unter Stickstoffstrom eingedampft. Der Rückstand wurde in 1 mL Ethylacetat rekonstituiert und in das GC/MS-System injiziert.

5.2 Methoden zur Isolierung und Aufreinigung synthetischer Cannabinoide aus Räuchermischungen oder Feststoffgemischen

5.2.1 Dünnschichtchromatographie

Im Falle von Räuchermischungen wurde ca. 1 g des Materials wie oben beschrieben mit Ethanol extrahiert. Anschließend wurden die Überstände vereinigt und mittels Rotationsverdampfer auf ein Endvolumen von ca. 2 mL eingengt. Zur Isolierung wurde das Extraktionsgemisch schrittweise linear entlang der Startzone auf die DC-Platten aufgebracht und diese mittels Cyclohexan/Diethylamin (9:1, V:V) entwickelt. Nach erfolgter Trennung wurden die einzelnen Platten getrocknet und das die unbekannte Substanz tragende Areal bandenförmig von der Plattenoberfläche abgekratzt. Das dabei erhaltene Silica-Material wurde abschließend dreifach mit jeweils 1,5 mL Ethanol extrahiert und die organische Phase nach Überführung in ein neues Glas-Vial schrittweise unter Stickstoff abgedampft.

Im Falle von Feststoffgemischen wurden 50 mg des entsprechenden Substanzgemisches in ca. 2 mL Ethanol gelöst und anschließend wie oben beschrieben mittels DC aufgereinigt.

5.2.2 Flash-Chromatographie

Nach Extraktion von 500 mg der betreffenden Räuchermischung mittels Ethanol wurden der Extrakt sowie 3 g Silicapulver in einen Rundkolben gegeben und mittels Rotationsverdampfer getrocknet. Zur Probenaufgabe wurde das Silicapulver anschließend in eine leere Rf-Kartusche überführt und verdichtet. Zur chromatographischen Trennung der Probenkomponenten wurde ein CombiFlash Rf-System verwendet.

Die chromatographischen Bedingungen waren wie folgt: Säule, 13 g RediSep Rf C₁₈; Mobile Phase A₁, 0,55 % Ameisensäure in Wasser (pH 2,3); mobile Phase B, Methanol; Laufmittelgradient, linear 60 – 100 % B in 20 min (Haltezeit 5 min); Flussrate, 15 mL/min.

Zur Sammlung der Fraktionen wurde die Absorption sowohl bei 207 nm und 218 nm als auch die durchschnittliche Absorption über einen Wellenlängenbereich von 200 – 360 nm verfolgt. Aus den die Zielsubstanz enthaltenen Fraktionen wurde zunächst der methanolische Anteil mittels Rotationsverdampfer entfernt. Im Anschluss wurden die wässrigen Phasen mittels Zugabe von 1 mL NaOH-Lösung (1 M) basifiziert und dreimal mit jeweils 10 mL MTBE ausgeschüttelt. Die Etherphasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und mittels Rotationsverdampfer getrocknet.

5.3 Analyse humaner Serumproben auf synthetische Cannabinoide

5.3.1 Erhalt von drogenfreiem Humanserum

Drogenfreies Humanserum (Leerserum) wurde von freiwilligen Spendern des Instituts für Rechtsmedizin Freiburg erhalten und diente als Leermatrix für die Methodenentwicklung sowie Methodvalidierung. Die Leerserumproben wurden bis zu ihrer Verwendung bei – 20 °C in Glasröhrchen gelagert.

5.3.2 Extraktion synthetischer Cannabinoide aus authentischen Serumproben

Nach Überführung von 1 mL Serum in ein Glasröhrchen wurden zunächst 10 µL des ISTD-Gemisches ,IS_{Se}‘, 0,5 mL des Carbonatpuffers und 1,5 mL des Extraktionsgemisches hinzugegeben. Die Probe wurde daraufhin für 5 min leicht auf dem Überkopfmischer durchmischt und im Anschluss für 20 min bei 3400 x g zentrifugiert. Es wurde folgend 1 mL des organischen Überstandes in ein HPLC-Vial überführt und dieser bei 40 °C auf dem Heizblock unter Stickstoffstrom abgedampft. Zur Analyse wurde der getrocknete Rückstand in 100 µL mobiler Phase, bestehend aus Laufmittel A₂/Methanol (50:50 V/V, Startzusammensetzung des Gradienten), rekonstituiert und in das LC/MS/MS-System injiziert.

5.3.3 Methodenvalidierung

Die LC/ESI-MS/MS-Methode zur Bestimmung von 30 synthetischen Cannabinoiden in humanen Serumproben wurde quantitativ nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) validiert^[95].

5.3.3.1 Selektivität

Um mögliche Interferenzen mit endogenen Substanzen oder Reagenzien und Materialien, die zur Probenaufarbeitung verwendet wurden, zu ermitteln, wurden sechs Leerproben von verschiedenen Spendern ohne Zusatz von Analyten oder ISTDs untersucht. Um auf etwaige Anteile undeutlierter Substanzen im ISTD-Gemisch zu prüfen, wurden zusätzlich zwei Leerproben mit dem ISTD-Gemisch versetzt und analysiert. Darüber hinaus wurden Leerproben mit alltäglichen Drogen (Benzodiazepine, Amphetamin und Amphetamin-Derivate, Designer-Stimulanzien, natürliche Cannabinoide, Opioide und Kokain) aufdotiert, extrahiert und analysiert.

5.3.3.2 Linearität

Zur Ermittlung der Linearität wurden sechs Kalibrationen im substanzspezifischen Kalibrationsbereich analysiert. Jede Kalibration bestand aus acht Kalibratoren, die durch Aufdotieren von Leerproben mit 10, 20, 30, 40 und 50 µL der Arbeitslösung ‚Mix Se₂‘ sowie 10, 15 und 20 µL der Arbeitslösung ‚Mix Se₁‘ erhalten wurden. Zur Auswertung wurde ein lineares Regressionsmodell mit statistischer 1/x Wichtung angewendet. Zur statistischen Analyse auf Ausreißer (Grubbs-Test, Signifikanzniveau 99 %) sowie Linearität (Mandel-Test, Signifikanzniveau 99 %) wurde die Software Valistat 2.0 verwendet.

5.3.3.3 Analytische Grenzen

Für Analyten, die mit der LC/ESI-MS/MS-Methode quantitativ analysiert werden konnten, wurde die Nachweisgrenze (limit of detection, LOD) sowie die Bestimmungsgrenze (lower limit of quantification, LLOQ) statistisch gemäß DIN 32645 berechnet. Hierfür wurden 10 äquidistante Kalibratoren mit aufsteigenden Konzentrationen in direkter Nähe zur erwarteten Nachweisgrenze hergestellt und analysiert. Zur statistischen Berechnung der

analytischen Grenzen wurde die Software Valistat 2.0 verwendet. Die Konzentration des höchsten zur statistischen Berechnung des LOD und LLOQ verwendeten Kalibrators durfte dabei das 10-fache des letztendlich berechneten Wertes nicht übersteigen.

Für Analyten, die mit der LC/ESI-MS/MS-Methode nicht quantitativ analysiert werden konnten, wurde die Nachweisgrenze anhand von Signal-zu-Rausch-Verhältnissen ermittelt. Hierfür wurden fünf Leerproben von verschiedenen Spendern auf die zu erwartende Nachweisgrenze aufdotiert und analysiert. Jene niedrigste Konzentration, für die bei allen Proben sowohl für das Qualifier- als auch für das Quantifier-Ion der betreffenden Analyten ein Signal-zu-Rausch-Verhältnis von ≥ 3 erreicht wurde, wurde als LOD definiert.

5.3.3.4 Richtigkeit und Impräzision

Zur Beurteilung der Richtigkeit und Impräzision der Methode wurden jeweils an acht verschiedenen Tagen Qualitätskontrollen eines niedrigen sowie eines hohen Konzentrationsniveaus in Doppelbestimmung analysiert. Hierfür wurden Leerproben mit 30 μL der Arbeitslösung ‚Mix Se₂‘ (niedriges Konzentrationsniveau) bzw. 10 μL der Arbeitslösung ‚Mix Se₁‘ (hohes Konzentrationsniveau) aufdotiert. Die Bestimmung der Probenkonzentrationen erfolgte jeweils auf Basis einer arbeitstäglichen Kalibration. Die statistische Auswertung der Richtigkeit (ausgedrückt als Bias) sowie der Wiederholpräzision (ausgedrückt als intraday Impräzision) und Laborpräzision (ausgedrückt als interday Impräzision) wurde mittels der Software Valistat 2.0 durchgeführt.

Die GTFCh fordert sowohl für Bias als auch Impräzision Werte innerhalb eines Intervalls von $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ nahe der Bestimmungsgrenze).

5.3.3.5 Matrixeffekte, Wiederfindung und Prozessausbeute

Die Bestimmung der Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessausbeuten wurde jeweils für das niedrige sowie hohe Konzentrationsniveau nach dem Verfahren von *Matuszewski et al.* durchgeführt^[97]. Hierfür wurden drei verschiedene Proben-Sets hergestellt. Für Set 1 wurden die Analyten und ISTDs auf den entsprechenden Konzentrationsniveaus in mobiler Phase analysiert. Für Set 2 wurden zunächst Leerproben aufgearbeitet, die erhaltenen Leerextrakte auf das entsprechende Konzentrationsniveau

aufdotiert und abschließend analysiert. Für Set 3 wurden Leerproben vor der Extraktion auf das entsprechende Konzentrationsniveau aufdotiert, aufgearbeitet und analysiert. Die Proben eines jeden Sets wurden mindestens in Fünffachbestimmung analysiert, wobei für die Sets 2 und 3 Leerproben derselben verschiedenen Spender verwendet wurden. Matrixeffekte wurden durch die beiden folgenden Methoden bestimmt:

1. Vergleich der absoluten Peakflächen der Analyten und ISTDs aus Set 2 mit jenen aus Set 1
2. Vergleich der relativen Peakflächen (Fläche Analyt/Fläche zugewiesener ISTD) aus Set 2 mit jenen aus Set 1

Die Wiederfindungen von Analyten und ISTDs wurden durch Vergleich der absoluten Peakflächen aus Set 3 mit jenen aus Set 2 berechnet. Die Berechnung der Prozessausbeuten beruhte auf dem Vergleich der absoluten Peakflächen aus Set 3 mit jenen aus Set 1.

Gemäß der Richtlinien der GTFCh gilt für den Mittelwert des Matrixeffektes ein Akzeptanzintervall von 75 – 125 %. Bei der Standardabweichung des Matrixeffektes gelten bei der Verwendung deuterierter ISTDs 25 %, ansonsten 15 % (20 % nahe der Bestimmungsgrenze) als akzeptabel.

5.3.3.6 Autosamplerstabilität

Um die Stabilität der erfassten Analyten und ISTDs in aufgearbeiteten, sich im Autosampler befindenden Proben zu ermitteln, wurden jeweils 10 Leerproben auf das niedrige und das hohe Konzentrationsniveau aufdotiert und aufgearbeitet. Nach Rekonstitution der Rückstände in mobiler Phase wurden die Proben identischer Konzentrationsniveaus vereinigt, homogenisiert und auf jeweils neun neue HPLC-Vials aliquotiert. Im Anschluss wurden Proben beider Konzentrationsniveaus jeweils stündlich injiziert und die Stabilität somit über einen Zeitraum von neun Stunden untersucht. Die Autosamplerstabilitäten der Analyten und ISTDs wurden durch Vergleich der absoluten Peakflächen mit jenen aus der Erstinjektion berechnet.

Laut GTFCh-Richtlinie beträgt die maximal akzeptable Abnahme der Peakflächen über den Betrachtungszeitraum bei Verwendung deuterierter ISTDs 25 % und in andere Fällen 15 % (20 % nahe der Bestimmungsgrenze).

5.3.3.7 Einfrier-/Auftaustabilität und Langzeitstabilität

Zur Überprüfung der Einfrier-/Auftaustabilität sowie der Langzeitstabilität wurden Pools von Leerproben zu je 18 mL hergestellt und durch Zugabe entsprechender Volumina der Arbeitslösungen ‚Mix Stock‘ und ‚Mix Se₁‘ auf das jeweilige niedrige und hohe Konzentrationsniveau aufdotiert. Nach Homogenisation beider Ansätze wurden die Pools jeweils auf drei Sets zu je sechs Proben aliquotiert. Die Proben des Set 1 wurden sofort aufgearbeitet und analysiert. Die Proben des Set 2 wurden drei Einfrier-/Auftauzyklen unterworfen und nach dem dritten Zyklus analysiert. Im Rahmen eines Zyklus wurden die Proben für mindestens 21 h bei –20 °C gelagert und anschließend für mindestens 1 h aufgetaut. Die Proben des Set 3 wurden über einen Zeitraum von 14 d bei –20 °C gelagert und anschließend analysiert. Die Einfrier-/Auftaustabilitäten wurden durch Vergleich der Konzentrationen aus Set 2 mit jenen aus Set 1 berechnet. Die Berechnung der Langzeitstabilitäten erfolgte durch den Vergleich der Konzentrationen aus Set 3 mit jenen aus Set 1. Die Bestimmung der Konzentrationen erfolgte jeweils auf Basis einer arbeitstäglichen Kalibration.

Als Akzeptanzkriterium für die Analytstabilität sollte der Mittelwert der Stabilitätsproben innerhalb 85 – 115 % des entsprechenden Kontrollprobenmittelwertes liegen.

5.3.3.8 Carry-over Effekte

Eine Leerprobe wurde auf das 50-fache des höchsten Kalibranten der Methode aufdotiert und analysiert. Um auf einen möglichen carry-over hoher Analytmengen in Folgeproben einer Analysenserie zu prüfen, wurden anschließend drei aufgearbeitete Leerproben injiziert und auf Analytsignale hin untersucht.

5.3.4 Untersuchungen zur Langzeitnachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben, Studiendesign

Ein männlicher Freiwilliger nahm peroral eine Hartgelatine kapsel mit 5 mg reinem AM-694 ein. Serumproben wurden folgend über mehrere Tage abgenommen, aufgearbeitet und mit der entwickelten LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in Humanserum analysiert.

Drei Monate nach Durchführung dieses Experiments wurde die Studie mit der Substanz AM-2201 wiederholt.

5.4 Analyse humaner OF-Proben auf synthetische Cannabinoide

5.4.1 Erhalt von drogenfreiem OF

Drogenfreier OF (Leerprobe) wurde von freiwilligen Spendern des Instituts für Rechtsmedizin Freiburg erhalten und diente als Leermatrix für die Methodenentwicklung sowie Methodvalidierung. Die Leerproben wurden zentrifugiert und die erhaltenen Überstände anschließend bis zu ihrer Verwendung bei – 20 °C in Glasröhrchen gelagert.

5.4.2 OF-Probennahme mit dem Dräger DCD 5000 Probensammler

Im Falle einer kurzzeitig zurückliegenden nasalen oder oralen Aufnahme von Substanzen wird empfohlen, mindestens 10 min bis zur Probennahme zu warten.

Nach Herausnahme aus dem Transportröhrchen, wird der Speichelsammler an der Mundschleimhaut der Wangeninnenseite des Probanden platziert und dort vorsichtig von einer Seite zur anderen bewegt, ohne dass am Probensammler gesaugt oder auf ihm gekaut wird. Das Ende der Probennahme wird angezeigt indem sich der Volumenindikator blau färbt. Der Sammler wird anschließend zurück in das Transportröhrchen gesteckt und jenes mit dem Deckel verschlossen. Für den Fall, dass mehrere Proben gleichzeitig von demselben Probanden abgenommen werden sollen (z. B. für eine Mehrfachbestimmung), können zwei Probensammler an ihrer Rückseite zusammengesteckt werden und die Probennahme wie beschrieben durchgeführt werden.

5.4.3 Extraktion synthetischer Cannabinoide aus authentischen OF-Proben

Der mit der OF-Probe beladene Pad des Speichelsammlers DCD 5000 wurde in das Probenröhrchen eines Salivette-Speichelsammlers ausgestoßen und anschließend 5 min bei 3400 x g zentrifugiert. Nach Entfernen des Zentrifugationsröhrchens wurden 1 mL Ethanol und 10 µL des ISTD-Gemisches ‚IS_{DCD}‘ hinzugegeben und erneut für 5 min zentrifugiert. Der Überstand wurde folgend in ein Glasröhrchen überführt, das Röhrchen in einen Vakuumkonzentrator gestellt und die Probe bei 50 °C innerhalb von ca. 1,5 h zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde im Anschluss mittels 0,2 mL Carbonatpuffer rekonstituiert. Nach Zugabe von 1,5 mL des Extraktionsgemisches wurde die Probe für 5 min leicht auf dem Überkopfmischer durchmischt und im Anschluss für 20 min bei 3400 x g zentrifugiert. Es wurde folgend 1 mL der organischen Phase in ein HPLC-Vial überführt und dieser bei 40 °C auf dem Heizblock unter Stickstoffstrom abgedampft. Zur Analyse wurde der getrocknete Rückstand in 100 µL mobiler Phase, bestehend aus Laufmittel A₂/Methanol (50:50 V/V, Startzusammensetzung des Gradienten), rekonstituiert und in das LC/MS/MS-System injiziert.

5.4.4 Extraktion synthetischer Cannabinoide aus OF-Validierungsproben

Während der Methodenvalidierung wurden 333 µL drogenfreier OF in ein Glasröhrchen überführt und zunächst mit dem entsprechenden Volumen an Arbeitslösung versetzt. Nach Zugabe von 1 mL Ethanol und 10 µL des ISTD-Gemisches ‚IS_{DCD}‘ wurde die Probe für 5 min bei 3400 x g zentrifugiert. Nach Platzieren der Probe in den Vakuumkonzentrator, wurde wie oben beschrieben weiter verfahren.

5.4.5 Methodenvalidierung

Die LC/ESI-MS/MS-Methode zur Bestimmung von 30 synthetischen Cannabinoiden in humanen OF-Proben wurde ebenfalls quantitativ nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) validiert^[95]. Da die Arbeitsschritte im Vergleich zur oben beschriebenen Validierung der Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in Humanserum weitestgehend identisch waren, werden folgend lediglich die Unterschiede genauer beschrieben.

5.4.5.1 Linearität

Zur Ermittlung der Linearität wurde wie in Kapitel 5.3.3.2 dieses Abschnittes beschrieben verfahren. Zur Herstellung der Kalibratoren wurden Leerproben mit 20, 30 und 40 μL der Arbeitslösung ‚Mix DCD₃‘, 20, 30 und 50 μL der Arbeitslösung ‚Mix DCD₂‘ sowie 10 und 20 μL der Arbeitslösung ‚Mix DCD₁‘ aufdotiert.

5.4.5.2 Richtigkeit und Impräzision

Zur Beurteilung der Richtigkeit und Impräzision der Methode wurde wie in Kapitel 5.3.3.4 dieses Abschnittes beschrieben verfahren. Zur Herstellung der Qualitätskontrollen wurden Leerproben mit 40 μL der Arbeitslösung ‚Mix DCD₃‘ (niedriges Konzentrationsniveau) bzw. 10 μL der Arbeitslösung ‚Mix DCD₁‘ (hohes Konzentrationsniveau) aufdotiert.

5.4.5.3 Autosamplerstabilität

Die Bestimmung der Autosamplerstabilität wurde wie in Kapitel 5.3.3.6 dieses Abschnittes beschrieben durchgeführt, wobei in diesem Fall acht Proben beider Konzentrationsniveaus hergestellt wurden und der Untersuchungszeitraum somit sieben Stunden betrug.

5.4.5.4 Wiederfindung der Analyten bei Verwendung des Dräger DCD 5000

Um die Analytmengen zu ermitteln, die ggf. auf bzw. an dem Polymerpad des DCD 5000 verbleiben und der Analytik somit nicht mehr zugänglich sind, wurden drei verschiedene Proben-Sets hergestellt. Für jedes Set wurden jeweils drei DCD 5000 in 400 μL OF getaucht, der zuvor mit 10 μL der Arbeitslösung ‚Mix DCD₁‘ versetzt wurde. Fünf min nach vollständigem Aufsaugen der Probe wurde mit den Sets unterschiedlich weiter verfahren. Für Set 1 wurden die Pads der DCD 5000 wie in 5.4.3 des experimentellen Teils beschrieben in das Probenröhrchen eines Salivette-Speichelsammlers ausgestoßen, zentrifugiert und sofort aufgearbeitet. Die DCD 5000 Speichelsammler von Set 2 wurden zurück in das Transportröhrchen platziert. Für Set 3 wurden die Pads der DCD 5000 in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (2 mL) ausgestoßen, 1 mL Ethanol zugegeben und die Gefäße verschlossen. Die Proben der Sets 2 und 3 wurden folgend für 3 d unter Lichtausschluss bei

Raumtemperatur gelagert. Die Bestimmung der Analytwiederfindungen erfolgte jeweils auf Basis einer arbeitstäglichen Kalibration.

5.4.5.5 Einfrier-/Auftaustabilität

Da bei Verwendung des DCD 5000 das gesamte Probenmaterial zur Analyse verwendet wurde und somit keine Reanalyse der Probe möglich war, wurde die Einfrier-/Auftaustabilität nicht untersucht.

5.5 Analyse humaner nOF-Proben auf synthetische Cannabinoide

5.5.1 Erhalt von drogenfreiem nOF

Drogenfreier nOF (Leerprobe) wurde erhalten, indem freiwillige Spender des Instituts für Rechtsmedizin Freiburg in ein Glasröhrchen spuckten. Die Proben dienten als Leermatrix für die Methodenentwicklung sowie Methodvalidierung und wurden bis zu ihrer Verwendung bei – 20 °C in Glasröhrchen gelagert.

5.5.2 nOF-Probennahme mit dem Biophor RapidEASE Probensammler

Vor der Probennahme spült der Proband zunächst seinen Mund mit Wasser und wartet anschließend für ca. 10 min. Anschließend spuckt der Proband solange in das Probenröhrchen bis das erforderliche Mindestvolumen von ca. 2 mL erreicht ist (erkennbar an einer schwarzen Linie zur Volumenanzeige). Das Probenröhrchen wird anschließend verschraubt und bis zur Analyse bei - 20 °C gelagert.

5.5.3 Extraktion synthetischer Cannabinoide aus authentischen nOF-Proben

200 µL der nOF-Probe wurden zunächst in ein Glasröhrchen überführt und durch kurzes Vortexen homogenisiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von 10 µL des ISTD-Gemisches ‚IS_{OF}‘ gefolgt von 600 µL eiskaltem Acetonitril. Nach erneut kurzem Vortexen, wurde die Probe für 20 min bei 3400 x g und 0 °C zentrifugiert. Daraufhin wurden 600 µL des Überstandes in ein HPLC-Vial überführt und bei 60 °C unter Stickstoffstrom zur Trockne gebracht. Zur Analyse wurde der getrocknete Rückstand in 100 µL mobiler Phase, bestehend

aus Laufmittel A₂/Methanol (50:50 V/V, Startzusammensetzung des Gradienten), rekonstituiert und in das LC/MS/MS-System injiziert.

5.5.4 Methodenvalidierung

Die LC/ESI-MS/MS-Methode zur Bestimmung von 28 synthetischen Cannabinoiden in humanen nOF-Proben wurde ebenfalls quantitativ nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) validiert^[95]. Da die Arbeitsschritte im Vergleich zur oben beschriebenen Validierung der Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in Humanserum weitestgehend identisch waren, werden folgend lediglich die Unterschiede genauer beschrieben.

5.5.4.1 Linearität

Zur Ermittlung der Linearität wurde wie unter 5.3.3.2 des experimentellen Teils beschrieben verfahren. Zur Herstellung der Kalibratoren wurden Leerproben mit 20, 30 und 40 µL der Arbeitslösung ‚Mix OF₂‘ sowie 10, 20, 30, 40 und 50 µL der Arbeitslösung ‚Mix OF₁‘ aufdotiert.

5.5.4.2 Richtigkeit und Impräzision

Zur Beurteilung der Richtigkeit und Impräzision der Methode wurde wie unter 5.3.3.4 des experimentellen Teils beschrieben verfahren, wobei die Qualitätskontrollen jeweils in Dreifachbestimmung analysiert wurden. Zur Herstellung der Qualitätskontrollen wurden Leerproben mit 40 µL der Arbeitslösung ‚Mix OF₂‘ (niedriges Konzentrationsniveau) bzw. 25 µL der Arbeitslösung ‚Mix OF₁‘ (hohes Konzentrationsniveau) aufdotiert.

5.5.4.3 Einfrier-/Auftaustabilität

Es wurden Pools von Leerproben zu je 3,6 mL hergestellt und durch Zugabe entsprechender Volumina der Arbeitslösungen ‚Mix Stock‘ und ‚Mix OF₁‘ auf das jeweilige niedrige und hohe Konzentrationsniveau aufdotiert. Die Bestimmung der

Einfrier-/Auftaustabilität sowie der Langzeitstabilität wurde anschließend wie unter 5.3.3.7 des experimentellen Teils beschrieben durchgeführt.

5.5.4.4 Carry-over Effekte

Die Prüfung auf carry-over wurde wie unter 5.3.3.8 des experimentellen Teils beschrieben durchgeführt, wobei die Leerprobe jedoch auf das 100-fache des höchsten Kalibranten aufdotiert wurde.

5.5.5 Expositionsversuch 3, Studiendesign

Ein männlicher Freiwilliger nahm peroral eine Hartgelatine kapsel mit 5 mg reinem AM-2201 ein. Serum- und nOF-Proben wurden anschließend über einen Zeitraum von 25 h abgenommen und mit den entwickelten LC/ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serum- und nOF-Proben analysiert. Zur Sammlung der nOF-Proben wurde der RapidEASE-Probennehmer verwendet. Die Lagerung der nOF-Proben erfolgte bei 4 °C. Die Serumproben wurden bei – 20 °C aufbewahrt.

5.5.6 Expositionsversuch 4, Studiendesign

Zwei männliche Freiwillige zogen jeweils drei Mal kurz an einem Joint, ohne zu inhalieren. Der Rauch wurde für wenige Sekunden im Mundraum belassen und anschließend ausgeblasen. Der Joint enthielt jeweils 100 mg fünf verschiedener Räuchermischungen sowie 500 mg Tabak. Die Räuchermischungen wurden im Vorfeld wie in Kapitel 5.1 dieses Abschnittes beschrieben qualitativ auf den Inhalt etwaiger synthetischer Cannabinoide untersucht, wobei die folgenden 12 Substanzen nachgewiesen werden konnten: AM-2201, JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-122, JWH-200, JWH-210, JWH-250, JWH-251, JWH-307, MAM-2201 sowie das *ortho* Isomer von RCS-4. Über die folgenden 90 h wurden nOF-Proben gesammelt, wobei nach ca. 3 h ebenfalls eine Serumprobe genommen wurde. Serum- und nOF-Proben wurden bei – 20 bzw. 4 °C gelagert und am Folgetag mit den entwickelten LC/ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serum- und nOF-Proben wie unter 5.3.2 und 5.5.3 dieses Abschnittes beschrieben analysiert.

5.5.7 Untersuchungen zur Stabilität ausgewählter synthetischer Cannabinoide in authentischen nOF-Proben in Abhängigkeit des Probengefäßes, Studiendesign

Eine nOF-Probe aus dem in Kapitel 3.3.3.2 dieses Abschnittes beschriebenen Versuches diente als authentische Probe für die Untersuchungen. 200 µL der Probe wurden mit 11,8 mL eines Pools frisch gesammelten nOF versetzt, um Substanzkonzentrationen im Kalibrationsbereich der Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen nOF-Proben zu erhalten. Der Ansatz wurde homogenisiert und anschließend zu je 300 µL auf die Glas- und Probenröhrchen der beiden Speichelsammler RapidEASE und Saliva Split Collector aliquotiert. Die Röhrchen wurden über 72 h unter Lichtausschluss bei 4 und 25 °C gelagert. Zur Bestimmung der Anfangskonzentrationen wurden außerdem drei Röhrchen aus Kalknatronsilikatglas mit jeweils 200 µL des hergestellten Pools befüllt und sofort aufgearbeitet. Die Bestimmung der Analytkonzentrationen erfolgte auf Basis einer arbeitstäglichen Fünf-Punkt-Kalibration. Die Analytwiederfindungen wurden durch Vergleich der mittleren Analytkonzentrationen der entsprechenden Lagerungsbedingung (Zeit, Temperatur, Art des Probenröhrchens) mit den mittleren Anfangskonzentrationen berechnet. Mittlere Analytwiederfindungen von $\pm 20\%$ der Anfangskonzentrationen wurde als stabil betrachtet. Zur Analyse der Proben wurde die zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen nOF-Proben entwickelte LC/ESI-MS/MS-Methode verwendet.

5.6 Analytische Methoden

5.6.1 Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS)

Die qualitative Analyse der Räuchermischungen und „Research Chemicals“ erfolgte auf einem GC/MS-System bestehend aus einem Gaschromatograph 6890 mit Autosampler 7683B, gekoppelt mit einem Massenspektrometer 5973 der Firma Agilent (Waldbronn, Deutschland).

Die GC-Bedingungen waren wie folgt: splitlose Injektion; Injektortemperatur, 270 °C; Trennsäule: HP-5-MS 30 m x 0,25 mm Innendurchmesser, 0,25 mm Filmdicke (Agilent); Trägergas, Helium; Flussrate, 1 mL/min; Temperaturprogramm, initial 100 °C (Haltezeit 3 min), lineares Heizen auf 310 °C mit 30 °C/min (Haltezeit 10 min).

Die MS-Bedingungen waren wie folgt: Temperatur der Transferline, 280 °C; Quellentemperatur, 230 °C; Ionisationsart, EI; Ionisationsenergie, 70 eV; Messmodus, Full-Scan; Massenbereich, m/z 50 - 550 amu mit 1,5 Scans/s.

Zur Datenauswertung von GC/EI-MS-Spektren sowie zur Erstellung laboreigener Spektrenbibliotheken wurde die Software ChemStation G1701GA in der Version D.03.00611 verwendet.

5.6.2 Hochaufgelöste Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandem-massenspektrometrie (LC/HR-MS/MS)

Für die Bestimmung hochaufgelöster Massen von Molekül- und Fragment-Ionen wurde LC/HR-MS/MS verwendet. Die entsprechenden Messungen wurden von Herrn Dr. Sebastian Broecker am Institut für Rechtsmedizin der Charité Berlin durchgeführt. Die chromatographische Trennung der Analyten wurde mittels eines Agilent 1200 SL HPLC-Systems auf einer Phenomenex Luna C₁₈-Säule (150 x 2 mm, 5 µm) bei einer Flussrate von 0,25 mL/min realisiert. Als Fließmittel wurden die mobilen Phasen A₂ sowie B (Methanol) verwendet. Der binäre Gradient war wie folgt: initial 50 % B, linearer Anstieg auf 80 % B innerhalb von 5 min, linearer Anstieg auf 90 % B innerhalb von 4 min (2 min Haltezeit), linearer Abfall auf 50 % B innerhalb von 1,5 min (2,5 min Haltezeit) zur Reequilibrierung der Säule. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit wurde post-column *n*-Propanol mit einer Flussrate von 0,2 mL/min zugeführt. Das Injektionsvolumen betrug 20 µL.

Die Detektion erfolgte unter Verwendung eines 6530 Q-TOF-Massenspektrometers im positiven Ionenmodus. Die MS-Parameter waren wie folgt: Ionisationsart, ESI-positiv; Quadrupol-Massenfenster im MS/MS Modus, 1,3 m/z ; Kollisionsgas, Stickstoff; Kollisionsenergie, 0 – 40 eV (MS Modus) bzw. 20 und 40 eV (MS/MS Modus); Massengenauigkeit, < 3 ppm (MS Modus) bzw. < 5 ppm (MS/MS Modus); Messfrequenz, 10.000 Signale/s; Detektionsfrequenz, 4 GHz (MS-Modus), 1 GHz (MS/MS-Modus).

Zur Datenauswertung wurde die Software MassHunter Qualitative Analysis in der Version B.03.01 verwendet.

5.6.3 Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Messungen wurden von Herrn Volker Brecht sowie Herrn Sascha Ferlaino am Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Universität Freiburg, durchgeführt. Die 1D-NMR-Spektren wurden bei Raumtemperatur mittels eines DRX 400-Spektrometers der Firma Bruker BioSpin (Rheinstetten) aufgenommen (^1H : 400,13 MHz; ^{13}C : 100,62 MHz). Die chemischen Verschiebungen δ wurden in ppm relativ zu CHCl_3 sowie CDCl_3 als internen Standard (^1H : $\delta = 7,28$ ppm; ^{13}C : $\delta = 77,23$ ppm), die Kopplungskonstanten in Hz sowie die Multiplizitäten als s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett) sowie m (Multipllett) angegeben. Zur Signalzuordnung wurden 1D-TOCSY- und 2D- $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC-, $^1\text{H}/^1\text{H}$ -COSY- und $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HMBC-Experimente durchgeführt.

Zur Datenauswertung wurde die Software TopSpin der Firma Bruker BioSpin in der Version 2.1 verwendet.

5.6.4 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC/ESI-MS/MS)

Für den Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serum- und Oral Fluid-Proben wurde LC/ESI-MS/MS verwendet. Die chromatographische Trennung der Analyten wurde mittels eines Shimadzu Prominence HPLC-Systems auf einer Phenomenex Luna Phenyl Hexyl-Säule (50 x 2 mm, 5 μm) bei einer Flussrate von 0,4 mL/min realisiert. Als Fließmittel wurden die mobilen Phasen A₂ sowie B (Methanol) verwendet. Der binäre Gradient war wie folgt: initial 50 % B, linearer Anstieg auf 90 % B innerhalb von 7 min (1,5 min Haltezeit), linearer Abfall auf 50 % B innerhalb von 0,5 min (3 min Haltezeit) zur Reequilibrierung der Säule. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit wurde post-column *n*-Propanol mit einer Flussrate von 0,2 mL/min zugeführt. Die Autosamplertemperatur betrug 10 °C, die Ofentemperatur 50 °C und das Injektionsvolumen 20 μL .

Die Detektion der Analyten und ISTDs erfolgte unter Verwendung eines QTrap 4000 Triple-Quadrupol-Tandemmassenspektrometers mit linearer Ionenfalle im positiven Ionenmodus (AB Sciex, Darmstadt). Die Quellenparameter waren wie folgt: Ionisationsart, ESI-positiv; Quellenspannung, 2,5 kV; Quellentemperatur, 600 °C; Curtaingas, Stickstoff, 20 psi; Ion Source Gas 1, 40 psi, Ion Source Gas 2, 50 psi.

Zur Datenauswertung wurde die Software Analyst 1.5.1 verwendet.

Die „scheduled Multiple Reaction Monitoring“ Methode (sMRM) zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Matrixproben erfasste jeden Analyten mit zwei MRM-Übergängen sowie jeden ISTD mit einem MRM-Übergang. Die MRM-Übergänge wurden jeweils in einem Zeitfenster von ± 25 s der erwarteten Retentionszeit eines jeden Analyten und ISTD aufgenommen. Die Gesamtzykluszeit betrug 1,2 s mit einer Pause von 5 ms zwischen jedem Übergang. Alle Analyten und ISTDs wurden durch Direktinfusion hinsichtlich der substanzabhängigen massenspektrometrischen Parameter Declustering Potential (DP), Entrance Potential (EP), Collision Energy (CE) sowie Collision Cell Exit Potential (CXP) optimiert. Die MS-Parameter und Retentionszeiten aller mit der Methode erfassten Analyten und ISTDs sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Tabelle 17 MRM Übergänge, optimierte MS-Parameter, Retentionszeiten und Qualifier/Quantifier-Verhältnisse aller Analyten und ISTDs der LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide.

Analyt	Q_1 [Da]	Q_3 [Da]	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	t_R [min]	Qualifier/Quantifier Ratio [%]
AB-001	350,5	135,2*	70	5	41	10	7,2	14
		107,1	70	5	60	7		
AKB48	366,2	135,1*	70	5	26	19	7,4	15
		93,1	70	5	72	8		
AKB48-5F	384,1	135,1*	75	5	29	18	6,8	55
		134,1	75	5	28	23		
AM-1220	383,5	98,1*	78	5	56	6	1,4	34
		155,1	78	5	38	11		
AM-1248	391,2	135,1*	80	5	41	10	3,4	36
		112,1	80	5	41	7		
AM-2201	360,2	155,0*	85	5	36	11	6,1	65
		127,1	85	5	64	8		
AM-2232	353,1	155,1	85	5	30	12	4,9	65
		127,1	85	5	70	9		
AM-2233	459,1	98,1*	65	5	53	6	1,0	61
		112,1	65	5	31	8		
AM-694	436,3	231,0*	80	5	40	16	5,5	35
		203,0	80	5	67	8		
APICA	365,1	135,1*	80	5	41	10	6,9	14
		107,1	80	5	62	7		
CRA-13	369,3	155,1*	72	5	35	7	7,9	91
		171,1	72	5	40	11		
JWH-007	356,2	155,2*	85	5	36	12	6,8	68
		127,2	85	5	70	9		
JWH-015	328,2	155,1*	85	5	34	11	5,8	67
		127,1	85	5	60	8		
JWH-018	342,2	155,1*	90	5	35	7	6,8	72
		127,1	90	5	61	8		
JWH-019	356,2	155,1*	90	5	36	11	7,2	66
		127,1	90	5	71	9		
JWH-020	370,3	155,1*	100	5	36	10	7,5	86
		127,1	100	5	65	8		
JWH-073	328,2	155,1*	90	5	32	11	6,3	67

Analyt	Q ₁ [Da]	Q ₃ [Da]	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	t _R [min]	Qualifier/Quantifier Ratio [%]
JWH-081	372,2	127,1	90	5	65	8	7,0	33
		185,1*	80	5	35	12		
		214,2	80	5	35	10		
JWH-122	356,2	169,1*	94	5	36	12	7,2	56
		141,1	94	5	66	9		
JWH-200	385,2	155,1*	80	5	33	11	2,6	54
		114,1	80	5	37	8		
JWH-203	340,1	125,0*	80	5	36	8	6,3	13
		188,2	80	5	28	13		
JWH-210	370,2	183,1*	80	5	35	8	7,5	33
		214,2	80	5	35	10		
JWH-250	336,3	121,1*	75	5	30	8	6,1	44
		91,1	75	5	63	5		
JWH-251	320,2	105,1*	80	5	34	6	6,2	69
		214,1	80	5	34	9		
JWH-307	386,2	155,1*	60	5	30	11	7,0	55
		127,0	60	5	72	9		
JWH-370	386,2	155,1*	60	5	30	11	7,3	58
		127,0	60	5	72	9		
JWH-387	420,1	233,0*	80	5	38	5	7,6	43
		205,0	80	5	62	15		
JWH-398	376,2	189,2*	85	5	37	14	7,4	61
		161,2	85	5	62	12		
JWH-412	360,4	173,2*	70	5	36	13	6,9	57
		145,1	70	5	66	10		
MAM-2201	374,4	169,2*	70	5	37	13	6,5	65
		141,1	70	5	61	10		
Methanandamid	362,2	76,2*	51	5	33	4	6,7	28
		91,2	51	5	66	5		
RCS-4	322,2	135,1*	80	5	34	10	5,9	31
		77,1	80	5	77	4		
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	322,2	135,1*	80	5	32	10	5,7	37
		77,1	80	5	74	4		
RCS-8	376,2	121,1*	60	5	34	8	7,1	45
		91,1	60	5	74	5		
STS-135	383,1	135,1*	85	5	41	10	6,4	16
		107,1	85	5	66	7		
UR-144	312,1	125,0*	70	5	34	16	6,6	45
		214,0	70	5	32	17		
UR-144 Isomer	312,1	214,1*	50	5	32	15	6,3	42
		144,1	50	5	52	10		
WIN 48,098	379,2	135,0*	70	5	30	9	1,7	13
		114,1	70	5	41	8		
WIN 55,212-2	427,2	155,1*	80	5	36	11	5,6	40
		127,1	80	5	76	8		
XLR-11	330,1	125,1*	80	5	32	9	5,9	35
		232,1	80	5	34	18		
XLR-11 Isomer	330,1	232,1*	50	5	29	13	5,6	2
		144,1	50	5	35	10		

Interne Standards

D ₉ -JWH-007	365,2	155,1	90	5	36	11	6,8	-
D ₇ -JWH-015	335,2	155,1	85	5	34	11	5,7	-

Analyt	Q_1 [Da]	Q_3 [Da]	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	t_R [min]	Qualifier/Quantifier Ratio [%]
<i>D</i> ₁₁ -JWH-018	353,3	155,1	90	5	35	7	6,7	-
<i>D</i> ₉ -JWH-073	337,3	155,1	90	5	32	11	6,2	-
<i>D</i> ₉ -JWH-081	381,2	185,2	80	5	35	12	7,0	-
<i>D</i> ₉ -JWH-122	365,2	169,2	94	5	36	12	7,2	-
<i>D</i> ₅ -JWH-200	390,2	155,1	80	5	33	11	2,5	-
<i>D</i> ₉ -JWH-210	379,2	183,2	80	5	35	8	7,5	-
<i>D</i> ₅ -JWH-250	341,2	121,1	75	5	30	8	6,0	-
<i>D</i> ₉ -JWH-398	385,2	189,2	85	5	37	14	7,3	-
<i>D</i> ₉ -RCS-4	331,2	135,1	80	5	34	10	5,8	-
<i>D</i> ₃ -11-OH-THC	334,3	316,2	65	5	20	8	5,5	-
<i>D</i> ₇ -Flunitrazepam	321,0	275,2	65	5	50	8	2,6	-

(Q_1) m/z des Precursor-Ions, (Q_3) m/z des Fragment-Ions, (DP) Declustering Potential, (EP) Entrance Potential, (CE) Collision Energy, (CXP) Collision Cell Exit Potential, (t_R) Retentionszeit.

* Quantifier-Ion

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

(n)OF	(neat) Oral Fluid
(s)MRM	(scheduled) Multiple Reaction Monitoring
11-OH-THC	11-Hydroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol
AC	Adenylatcyclase
BtM	Betäubungsmittel
BtMÄndV	Betäubungsmitteländerungsverordnung
BtMG	Betäubungsmittelgesetz
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CB	Cannabinoidrezeptor
CBD	Cannabidiol
CBN	Cannabinol
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
CE	collision energy
CK	Creatin-Kinase
CXP	collision cell exit potential
DC	Dünnschichtchromatographie
DP	declustering potential
EC ₅₀	halbmaximale effektive Konzentration
EI	Elektronenstoß-Ionisation
EP	entrance potential
ESI	Elektrospray-Ionisation
GC/MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GDP	Guanosindiphosphat
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie
GTP	Guanosintriphosphat
HR	Hochauflösung (high resolution)
HR-MS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie
IC ₅₀	halbmaximale inhibitorische Konzentration
ISTD	Interner Standard
K _i	Inhibitionskonstante
LC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
LC/MS/MS	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie - Tandemmassenspektrometrie
LLOQ	Bestimmungsgrenze (lower limit of quantification)
LOD	Nachweisgrenze (limit of detection)
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladungsverhältnis
MS	Massenspektrometrie, Massenspektrometer
MS/MS	Tandemmassenspektrometrie

NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
R	Korrelationskoeffizient
R ²	Bestimmtheitsmaß
RSD	relative Standardabweichung (relative standard deviation)
SAR	Struktur-Wirkungs-Beziehungen (structure activity relationships)
StGB	Strafgesetzbuch
StVG	Straßenverkehrsgesetz
THC	Δ^9 -Tetrahydrocannabinol
THC-COOH	11-Nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol
TIC	Totalionenchromatogramm (total ion chromatogram)

ANHANG

1 Bioassays zur pharmakologischen Charakterisierung von synthetischen Cannabinoiden

1.1 In vivo Bioassays

Bevor mit der Identifizierung und Klonierung der CB-Rezeptoren die Grundlagen für die Entwicklung von *in vitro* Testsystemen geschaffen wurden, existierte für Untersuchungen zur pharmakologischen Potenz und SAR cannabimimetischer Substanzen lediglich die Möglichkeit mit Versuchstieren zu arbeiten. So wurden trotz der komplexen Wirkungen, die über CB-Rezeptoren vermittelt werden, in der Vergangenheit zahlreiche Tiermodelle entwickelt, die es ermöglichen, die cannabimimetische Potenz von Substanzen zu quantifizieren.

1.1.1 Tetrad-Modell

Das bekannteste und am häufigsten verwendete Tiermodell ist das sogenannte Tetrad-Modell, bei dem der Einfluss einer Testsubstanz auf vier spezielle Verhaltensweisen bzw. Reaktionen der Maus überprüft wird.

1.1.1.1 Antinozizeption/Tail-Flick-Test

Beim Tail-Flick-Test setzt man den Schwanz des Versuchstieres (meist Mäuse) durch Hitzeexposition einem Schmerzreiz aus und erfasst die Zeitspanne bis das Tier auf den Reiz reagiert. Ermittelt wird hierbei die Zeitdifferenz, die sich im Vergleich zu einer vorherigen intravenösen (i.v.) Gabe einer Testsubstanz ergibt^[220, 295].

1.1.1.2 Hypothermie

Die Gabe von CB₁-Agonisten führt bei Mäusen zu einem Absinken der Körpertemperatur. Dies ermöglicht Rückschlüsse auf die Potenz einer Testsubstanz die Bestimmung der Rektaltemperatur vor und nach Gabe der Substanz^[295].

1.1.1.3 Katalepsie/Ring-Immobilitätstest

Bei diesem Test nutzt man den Umstand aus, dass cannabimimetisch wirkende Substanzen die Bewegungsfähigkeit bei Mäusen herabsetzen. Im Rahmen des Tests werden die Versuchstiere vor und nach Applikation der Testsubstanz auf einen sich in der Luft befindenden Ring gesetzt. Anschließend wird die Summe an Zeitabschnitten erfasst, in der keine spontanen Bewegungen innerhalb eines definierten Zeitraumes auftreten^[295].

1.1.1.4 Sedierung/Spontanmotorische Aktivität

Cannabimimetika führen ebenfalls zu einer Sedierung der Maus. Dies erfasst man anhand der spontanmotorischen Aktivität eines Versuchstieres nach Gabe der betreffenden Testsubstanz gegenüber Placebo. Im Rahmen dieses Experimentes werden die Versuchstiere nach Applikation in einen speziellen Versuchskäfig gesetzt. In diesem wird anschließend die Bewegungsaktivität des Tieres mittels Infrarotstrahlen erfasst^[220, 295].

1.1.2 Dog static ataxia-Modell

Eines der ersten Tiermodelle zur Untersuchung der Wirkstärke von Cannabinoiden basiert auf der Beobachtung, dass Hunde nach THC-Applikation eine Vielzahl an Effekten zeigen (Sedierung, Katalepsie, Koordinationsschwierigkeiten etc.). Die Kombination dieser Effekte führt dazu, dass die Tiere hin- und hertorkeln, wenn sie sich in einem fixierten Zustand befinden. Dieses ungewöhnliche Verhalten wird im Rahmen des Versuches quantifiziert^[6, 295].

1.1.3 Drug discrimination-Modell

Das drug discrimination-Modell wird seit Jahrzehnten angewendet, um zu ermitteln, ob eine Testsubstanz bei Versuchstieren (meist Ratten oder Affen) dieselben subjektiven Wahrnehmungseffekte hervorruft, die von THC ausgelöst werden. Hierfür wird dem Tier zunächst mehrfach THC appliziert und die subjektiv empfundenen Effekte mit einer bestimmten Handlung assoziiert. Dies ist meist der Erhalt einer Belohnung (Futter), insofern das Tier den richtigen von zwei Hebeln betätigt. Nach Gabe von Placebo erhält das Tier lediglich dann eine Belohnung, wenn es den anderen Hebel betätigt. Somit lernt das Versuchstier zunächst

zwischen dem subjektiven Effekt und Placebo zu unterscheiden. Die trainierten Tiere erhalten in der Folge die zu testende Substanz. Ob durch sie THC-ähnliche Effekte ausgelöst werden, kann der Experimentator bestimmen, indem er die Genauigkeit ermittelt, mit der das Versuchstier den dem THC-Effekt zugewiesenen Hebel betätigt^[6, 23, 221, 222].

1.1.4 Anmerkungen zur Eignung von *in vivo* Assays

Das Tetrade-Modell ist auch heutzutage noch das am häufigsten verwendete Bioassay, um die cannabimimetische Wirkstärke einer Testsubstanz abzuschätzen. Es sollte jedoch an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass die vier Reaktionen des Versuchstieres einzeln betrachtet nicht spezifisch für eine cannabimimetische Aktivität sind. So rufen beispielsweise zahlreiche zentralwirksame Wirkstoffe aus der Gruppe der Antidepressiva oder Neuroleptika ebenfalls ein oder mehrere der beschriebenen Effekte hervor. Der Unterschied zu cannabimimetisch wirksamen Substanzen ist allerdings, dass in diesen Fällen die entsprechenden Effekte nicht von einem CB₁-Antagonisten gehemmt werden. Um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, ist es deshalb ratsam, sowohl alle vier Einzeltests des Modells durchzuführen als auch durch die gleichzeitige Gabe eines CB₁-Antagonisten zu überprüfen, ob die Effekte auch tatsächlich über den CB₁-Rezeptor vermittelt werden^[296, 297].

Die Tatsache, dass das drug discrimination-Modell die subjektive Wahrnehmung eines Versuchstiers analysiert, macht es pharmakologisch wesentlich spezifischer als das Tetrade-Modell und sollte diesem trotz des erhöhten Zeitaufwandes vorgezogen werden^[297].

1.2 Ex vivo Bioassays

Bevor *in vitro* Aktivitätsassays experimentelle Versuche mit Tieren weitestgehend ersetzen, wurde zur Bestimmung der cannabimimetischen Potenz ebenso der Umstand genutzt, dass CB-Agonisten das Ausmaß elektrisch erzeugter Kontraktionen von isolierten Strängen glatter Muskulatur senken können. Zur Anwendung kamen hierbei hauptsächlich der Samenleiter (*vas deferens*) der Maus sowie spezifische Nervenfasern (*plexus myentericus*) aus dem Dünndarm des Meerschweinchens^[6, 17, 23].

1.3 In vitro Bioassays

1.3.1 Bindungsaffinitätsassays

Die Rezeptorbindungsaffinität ist jene Affinität, mit der eine zu charakterisierende Substanz in der Lage ist, eine hochaffine Referenzsubstanz von einem bestimmten Rezeptor zu verdrängen. In der heutigen experimentellen Pharmakologie werden zur Bestimmung solcher Affinitäten in der Regel sogenannte Verdrängungsassays verwendet. Hierbei werden Untersuchungen zur Affinität an CB-Rezeptoren meist an Homogenaten isolierter Membranen durchgeführt, in denen einer der beiden CB-Rezeptorsubtypen exprimiert wird. Solche Membranen werden in der Regel aus kultivierten Zellen erhalten (z. B. murine Zellen, CHO-Zellen oder humane Nierenzellen), in welche die für den spezifischen Rezeptor codierende cDNA transfiziert wurde. In selteneren Fällen werden auch Homogenate von Geweben verwendet, in denen der gewünschte Rezeptorsubtyp natürlich exprimiert wird. Auf Grund der hohen Dichte an CB₁- bzw. CB₂-Rezeptoren wird hierfür typischerweise Hirn- bzw. Milzgewebe von Ratten oder Mäusen benutzt. Als Referenzsubstanzen kommen meist die radioaktiv markierten Substanzen CP-55,940 oder WIN 55,212-2 in Form ihrer mit Tritium markierten Analoga zur Anwendung (³H]CP-55,940 und ³H]WIN 55,212-2)^[6, 17, 23]. Zunächst wird das Homogenat mit der Referenz- sowie Testsubstanz inkubiert. Nach Erreichen des Bindungsgleichgewichts erfolgen anschließend die Abtrennung des gebundenen vom ungebundenen Teil des Radioliganden und die Bestimmung der Restradioaktivität innerhalb des Homogenates. Die Restradioaktivität ist hierbei ein Maß für die Fähigkeit der Testsubstanz die Referenzsubstanz vom untersuchten Rezeptor zu verdrängen. Hierbei gilt, je niedriger die bestimmte Restradioaktivität, desto größer ist die Bindungsaffinität der Testsubstanz zum Rezeptor. Im Zuge solcher Verdrängungsassays werden aufsteigende Konzentrationen der Testsubstanz verwendet und die jeweils resultierende Restradioaktivität bestimmt. Jene Konzentration, bei der eine halbmaximale Verdrängung der Referenzsubstanz beobachtet wird, wird als mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀) bezeichnet. Sie ist ein direktes Maß für die Bindungsaffinität einer Testsubstanz und kann in eine Inhibitionskonstante (K_i) umgerechnet werden^[298]. Je niedriger der Wert von IC₅₀ oder K_i ist, desto höher ist die Bindungsaffinität der betreffenden Substanz.

1.3.2 Aktivitätsassays

Im Gegensatz zu Bindungsaffinitätsassays bestimmen Aktivitätsassays das Ausmaß von Effekten im Zuge der Signaltransduktion, d. h. nach erfolgter Aktivierung eines biologischen Systems durch eine Testsubstanz. Hierbei ist es beispielsweise durch Testung aufsteigender Substanzkonzentrationen möglich, die intrinsische Aktivität bzw. die pharmakologische Potenz der Testsubstanz an einem bestimmten Rezeptor zu ermitteln. Darüber hinaus kann in Aktivitätsassays ermittelt werden, ob es sich bei einer Testsubstanz um einen Vollagonisten, Partialagonisten, inversen Agonisten oder Antagonisten handelt.

1.3.2.1 Forskolin-stimuliertes cAMP-Assay

Die Tatsache, dass die Aktivierung von CB-Rezeptoren zu einer Inhibition der Adenylatcyclase (AC) und somit zur Senkung des intrazellulären cAMP-Spiegels führt, macht man sich im sogenannten Forskolin-stimulierten cAMP-Assay zu Nutze. Hierbei werden transfizierte Zellen oder Gewebehomogenate zunächst mit dem AC-Aktivator Forskolin versetzt und die Menge an freigesetztem cAMP radioimmunologisch in Abwesenheit sowie in Gegenwart aufsteigender Konzentrationen der Testsubstanz bestimmt. In diesem Fall wird jene Konzentration, bei der ein halbmaximaler Effekt der Testsubstanz erhalten wird, als mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) bezeichnet. Sie ist ein direktes Maß für die intrinsische Aktivität der Testsubstanz am untersuchten Rezeptor^[20].

1.3.2.2 [³⁵S]GTPγS-Assay

Die Aktivierung eines GPCR durch einen Agonisten führt zunächst zu einer Konformationsänderung des Rezeptor-Liganden-Komplexes. Dieser Komplex assoziiert anschließend mit einem G-Protein. Im inaktiven Zustand bindet die α -Untereinheit des heterotrimeren G-Proteins Guanosindiphosphat (GDP). Die Assoziation mit einem GPCR löst jedoch den Austausch von GDP gegen Guanosintriphosphat (GTP) aus, wodurch die Dissoziation des G-Proteins in seine α -Untereinheit sowie einen Komplex aus β - und γ -Untereinheit ausgelöst wird. Beide Spezies interagieren anschließend mit diversen Effektorproteinen. Diese Signalkaskade wird letztendlich beendet, indem die α -Untereinheit GTP zu GDP hydrolysiert und somit wieder inaktiviert wird.

Im sogenannten [³⁵S]GTPγS-Assay wird dieser Mechanismus ausgenutzt, um die Potenz zu untersuchen, mit der eine Testsubstanz in der Lage ist, einen CB-Rezeptor zu aktivieren. Bei [³⁵S]GTPγS handelt es sich um ein radioaktiv markiertes und zudem schlecht hydrolysierbares Analogon von GTP, durch dessen Verwendung es möglich ist, das Ausmaß der Rezeptoraktivierung zu quantifizieren. Auch in diesem Assay werden Homogenate von Zelllinien oder Geweben verwendet, die einen der beiden CB-Rezeptorsubtypen exprimieren. Nach Inkubation mit [³⁵S]GTPγS und aufsteigenden Konzentrationen der Testsubstanz wird die Reaktion gestoppt und ungebundenes [³⁵S]GTPγS aus dem Ansatz entfernt. Anschließend kann die Restradioaktivität im Rückstand ermittelt werden. Jene Konzentration, bei der ein halbmaximaler Effekt der Testsubstanz erhalten wird, wird als mittlere effektive Konzentration (EC₅₀) bezeichnet. Sie ist ein direktes Maß für die Potenz der getesteten Substanz den entsprechenden Rezeptor zu aktivieren^[299].

1.3.3 Einfluss experimenteller Bedingungen auf *in vitro* Daten

Bei dem Vergleich von Affinitäts- und Aktivitätswerten einer Testsubstanz muss berücksichtigt werden, dass je nach Konzeption eines *in vitro* Assays leicht voneinander abweichende Daten erhalten werden können. Gewebe und Zelllinien unterscheiden sich bereits in Rezeptordichte und -verteilung. Von großer Bedeutung ist hierbei von welcher Spezies die Gewebekomponenten gewonnen wurden bzw. ob Zelllinien mit cDNA transfiziert wurden, die humane oder murine CB-Rezeptoren codiert (z. B. Maus oder Ratte)^[23]. Auf Grund der Tatsache, dass Radioliganden selbst mit unterschiedlicher Affinität an CB-Rezeptoren binden, ergeben sich je nach verwendeter Referenzsubstanz auch unterschiedliche Werte in Affinitätsassays¹². Ebenfalls wurde gezeigt, dass Temperatur, pH-Wert, eingesetzte Menge des Homogenates, Ionenart- und -konzentration sowie Art und Menge des eingesetzten Lösungsvermittlers zu unterschiedlichen Affinitäten und Aktivitäten einer Testsubstanz führen können^[23].

¹² Beispielweise hat CP-55,940 eine höhere Affinität zum CB₁-Rezeptor als WIN 55,212-2^[29, 300].

2 Weiterführende Informationen zu in Räuchermischungen identifizierten synthetischen Cannabinoiden

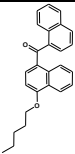
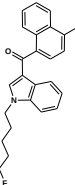
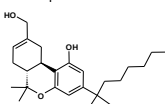
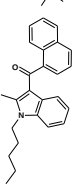
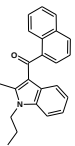
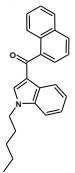
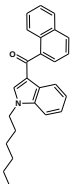
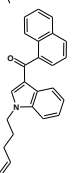
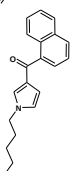
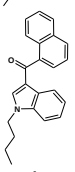
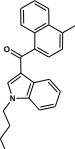
2.1 Strukturformeln, Summenformeln, CAS-Nummern und Literaturstellen bezüglich des Nachweises von synthetischen Cannabinoiden, die bis zum August 2013 in Räuchermischungen identifiziert wurden

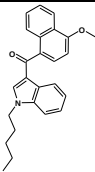
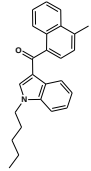
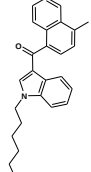
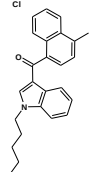
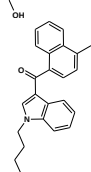
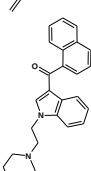
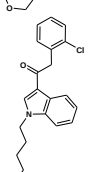
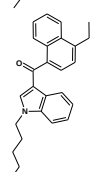
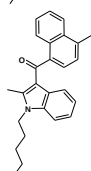
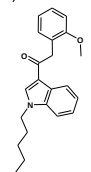
Tabelle I Übersicht der bis zum August 2013 in Räuchermischungen (RM) identifizierten synthetischen Cannabinoide. Aufgeführt sind Strukturformel, Summenformel, CAS-Nummer sowie Literaturstellen bezüglich des Nachweises.

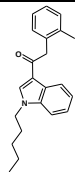
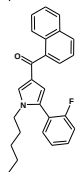
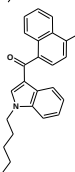
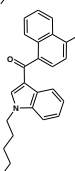
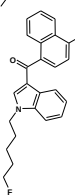
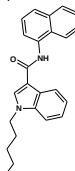
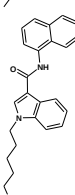
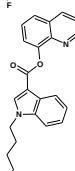
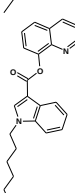
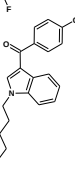
Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
4-HTMPIPO		$C_{21}H_{31}NO_2$	n. b.	[99]
A-796,260		$C_{22}H_{30}N_2O_2$	895155-26-7	[88, 301]
A-834,735		$C_{22}H_{29}NO_2$	895155-57-4	[88, 302]
A-836,339		$C_{16}H_{26}N_2O_2S$	959746-77-1	[88, 303]
A-836,339 Isomer		$C_{16}H_{26}N_2O_2S$	n. b.	[88]
AB-001		$C_{24}H_{31}NO$	1345973-49-0	[65-67, 76, 84]
AB-001-5F		$C_{24}H_{30}FNO$	1364933-62-9	[98]
AB-005		$C_{23}H_{32}N_2O$	895155-25-6	[88]
AB-005 Azepan-Isomer		$C_{23}H_{32}N_2O$	n. b.	[88]

Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
AB-FUBINACA		$C_{20}H_{21}FN_4O_2$	1185282-01-2	[304]
AB-PINACA		$C_{18}H_{26}N_4O_2$	n. b.	[304]
ADB-FUBINACA		$C_{21}H_{23}FN_4O_2$	n. b.	[98]
ADBICA		$C_{20}H_{29}N_3O_2$	n. b.	[98]
AKB48/APINACA		$C_{23}H_{31}N_3O$	1345973-53-6	[67, 84]
AKB48-5F/APINACA-5F		$C_{23}H_{30}FN_3O$	n. b.	[98]
AM-1220/AM-5983		$C_{26}H_{26}NO_2$	137642-54-7	[65-67, 84, 87, 194, 294]
AM-1220 Azepan-Isomer		$C_{26}H_{26}NO_2$	n. b.	[65, 66, 87, 194, 294]
AM-1241		$C_{22}H_{22}IN_3O_3$	444912-48-5	[84]
AM-1248		$C_{26}H_{34}N_2O$	335160-66-2	[84]
AM-2201		$C_{24}H_{22}FNO$	335161-24-5	[40, 65, 66, 86, 194, 305, 306]

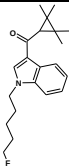
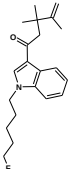
Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
AM-2201 4-Methoxynaphthyl- Derivat		$C_{25}H_{24}FNO_2$	n. b.	[98]
AM-2202		$C_{24}H_{23}NO_2$	335161-21-2	[307]
AM-2232		$C_{24}H_{20}N_2O$	335161-19-8	[67, 194]
AM-2233		$C_{22}H_{23}IN_2O$	444912-75-8	[67, 84-87]
AM-2233 Azepan-Isomer		$C_{22}H_{23}IN_2O$	n. b.	[87]
AM-694		$C_{20}H_{19}FINO$	335161-03-0	[65, 66, 74]
APICA/2NE1/SDB-001		$C_{24}H_{32}N_2O$	1345973-50-3	[67, 84, 307]
BB-22/QUCHIC		$C_{25}H_{24}N_2O_2$	1400742-42-8	[98, 308]
Cannabipiperidiethanon		$C_{24}H_{28}N_2O_2$	1345970-43-5	[65, 66, 83]
(-)-CP-47,497		$C_{21}H_{34}O_2$	70434-82-1	[47]
(-)-CP-47,497-C ₈ / Cannabicyclohexanol		$C_{22}H_{36}O_2$	70434-92-3	[47, 49]
CP-47,497-C ₈ 5-Dimethyl-Derivat		$C_{23}H_{38}O_2$	n. b.	[309]

Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
CRA-13/SB-13/SAB-378		$C_{26}H_{24}O_2$	432047-72-8	[65-67, 84]
EAM-2201		$C_{26}H_{26}FNO$	1364933-60-7	[67]
HU-210		$C_{25}H_{38}O_3$	112830-95-2	[310]
JWH-007		$C_{25}H_{25}NO$	155471-10-6	[65, 66]
JWH-015		$C_{23}H_{21}NO$	155471-08-2	[65, 66, 73]
JWH-018/AM-678		$C_{24}H_{23}NO$	209414-07-3	[47, 48, 74, 86, 89]
JWH-019		$C_{25}H_{25}NO$	209414-08-4	[74, 86]
JWH-022		$C_{24}H_{21}NO$	209414-16-4	[307]
JWH-030		$C_{20}H_{21}NO$	162934-73-8	[67]
JWH-073		$C_{23}H_{21}NO$	208987-48-8	[53, 73, 86, 89]
JWH-073 Methyl-Derivat		$C_{24}H_{23}NO$	1354631-21-2	[63, 64, 70, 311]

Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
JWH-081		$C_{25}H_{25}NO_2$	210179-46-7	[63, 64, 73, 306]
JWH-122		$C_{25}H_{25}NO$	619294-47-2	[65, 66, 71, 74, 86, 306]
JWH-122 5-Chloropentyl-Derivat		$C_{25}H_{24}ClNO$	n. b.	[98]
JWH-122 5-Hydroxypentyl-Derivat		$C_{25}H_{25}NO_2$	1379604-68-8	[67]
JWH-122 Pentenyl-Derivat		$C_{25}H_{23}NO$	n. b.	[67, 194]
JWH-200/WIN 55,225		$C_{25}H_{24}N_2O_2$	103610-04-4	[64, 66, 73]
JWH-203		$C_{21}H_{22}ClNO$	864445-54-5	[64, 66, 86, 305-307]
JWH-210		$C_{26}H_{27}NO$	824960-64-7	[65, 66, 74, 86, 305, 306]
JWH-213		$C_{27}H_{29}NO$	824959-83-3	[67, 85]
JWH-250		$C_{22}H_{25}NO_2$	864445-43-2	[54, 63, 64, 73, 86, 89]

Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
JWH-251		$C_{22}H_{25}NO$	864445-39-6	[65, 66, 73]
JWH-307		$C_{26}H_{24}FNO$	914458-26-7	[67, 312]
JWH-387		$C_{24}H_{22}BrNO$	1366067-59-5	[313]
JWH-398		$C_{24}H_{22}ClNO$	207227-49-4	[65, 66, 314]
MAM-2201		$C_{25}H_{24}FNO$	1354631-24-5	[65-67, 77, 194, 301, 306]
NNEI		$C_{24}H_{24}N_2O$	1338925-11-3	[308]
NNEI-5F		$C_{24}H_{23}FN_2O$	n. b.	[308]
PB-22		$C_{23}H_{22}N_2O_2$	1400742-17-7	[98, 308]
PB-22-5F		$C_{23}H_{21}FN_2O_2$	1400742-41-7	[302, 308]
RCS-4/SR-19/BTM-4		$C_{21}H_{23}NO_2$	1345966-78-0	[63, 64, 74, 305]

Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
RCS-4 Butyl-Isomer		$C_{20}H_{21}NO_2$	n. b.	[306, 313, 315]
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer		$C_{21}H_{23}HNO_2$	n. b.	[40, 65, 66]
RCS-8/SR-18/BTM-8		$C_{25}H_{29}NO_2$	1345970-42-4	[86, 190]
STS-135		$C_{24}H_{31}FN_2O$	1354631-26-7	[98, 194]
TMCP-020		$C_{23}H_{33}NO$	n. b.	[88]
TMCP-020 Isomer		$C_{23}H_{33}NO$	n. b.	[88]
TMCP-H		$C_{16}H_{19}NO$	n. b.	[88]
UR-144		$C_{21}H_{29}NO$	1199943-44-6	[67, 88, 99, 100, 194, 301]
UR-144 5-Chloropentyl-Derivat		$C_{21}H_{28}ClNO$	n. b.	[98]
UR-144 Isomer		$C_{21}H_{29}NO$	n. b.	[88, 99, 100]
WIN 48,098/Pravadolin		$C_{23}H_{26}N_2O_3$	92623-83-1	[65, 66]

Substanz	Strukturformel	Summenformel	CAS-Nummer	Nachweis in RM
XLR-11/FUR-144/UR-144-5F		$C_{21}H_{28}FNO$	1364933-54-9	[67, 88, 100, 194, 301]
XLR-11 Isomer		$C_{21}H_{28}FNO$	n. b.	[88, 100]

n. b.: nicht bekannt

Substanz	Affinitätsassays <i>in vitro</i> *		Aktivitätsassays <i>in vitro</i> *		Aktivitätsassays		sonstige Testungen
	CB ₁ [nM]	CB ₂ [nM]	CB ₁ [nM]	CB ₂ [nM]	<i>ex vivo</i>	<i>in vivo</i>	
AKB48/APINACA	IC ₅₀ (h): 824 ^[67]	IC ₅₀ (h): 430 ^[67]	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AKB48-5F/APINACA-5F	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-1220/AM-5983 ^a	K _i (r): 0,75 ^[79] K _i (r): 3,88 ^[38] K _i (r): 0,76 ± 0,047 ^[29] K _i (r): 0,9 ± 0,1 ^[80] IC ₅₀ (r): 1,22 ± 0,02 ^[31]	K _i (m): 1,91 ^[79] K _i (m): 73,4 ^[38]	n. b.	n. b.	[29, 31]	[81]	n. b.
AM-1220 Azepan-Isomer	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-1241 ^a	K _i (h): 1269 ^[319] K _i (h): 1300 ^[320] K _i (r): 120 ^[320] K _i (r): 115 ^[321] K _i (h): > 10000 ^[323]	K _i (h): 11,5 ^[319] K _i (r): 3,9 ^[321] K _i (h): 10 ^[320] K _i (r): 3,4 ^[320] K _i (h): 28,7 ± 2,01 ^[323] K _i (r): 26,7 ± 0,44 ^[323] K _i (m): 23,8 ± 4,36 ^[323]	EC ₅₀ (h): 2700 ^[320] EC ₅₀ (r): 2000 ^[320] EC ₅₀ (r): > 22000 ^[320] EC ₅₀ (r): 1970 ^[321]	EC ₅₀ (h): > 10000 ^[319] EC ₅₀ (h): > 1800 ^[320] EC ₅₀ (r): > 1000 ^[320] EC ₅₀ (r): > 10000 ^[320] EC ₅₀ (r): > 3000 ^[321] EC ₅₀ (h): 190 ± 184 ^[323] EC ₅₀ (r): 216 ± 71,9 ^[323] EC ₅₀ (m): 463 ± 199 ^[323]	n. b.	[321, 323]	n. b.
AM-1248 ^a	K _i (r): 100 ^[38]	K _i (m): 332 ^[38]	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-2201	K _i (r): 1,0 ^[38]	K _i (m): 2,6 ^[38]	EC ₅₀ (r): 24,4 ^[40]	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-2201 4- Methoxynaphthyl-Derivat	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-2202	K _i (r): 33,1 ^[38] K _i (h): 25,22 ± 4,99 ^[176]	K _i (m): 110,6 ^[38] K _i (h): 47,4 ± 10,1 ^[177]	[176]	IC ₅₀ (h): 17,7 ± 5,5 ^[177]	n. b.	n. b.	n. b.
AM-2232	K _i (r): 0,28 ^[38]	K _i (m): 1,48 ^[38]	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-2233 ^a	K _i (r): 2,8 ^[79] K _i (r): 1,2 ± 0,3 ^[80] IC ₅₀ (h): 5,7 ± 0,87 ^[324]	K _i (m): 2,9 ^[79]	IC ₅₀ (h): 0,93 ± 0,075 ^[324]	n. b.	n. b.	[81]	n. b.
AM-2233 Azepan-Isomer	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
AM-694	K _i (r): 0,08 ^[38]	K _i (m): 1,44 ^[38]	EC ₅₀ (r): 52,8 ^[40]	n. b.	n. b.	n. b.	[325]
APICA/2NE1/SDB-001	IC ₅₀ (h): 175 ^[67]	IC ₅₀ (h): 176 ^[67]	EC ₅₀ (r): 34 ^[68]	EC ₅₀ (h): 29 ^[68]	n. b.	[68]	n. b.
BB-22/QUCHIC	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Cannabipiperidiethanon ^a	IC ₅₀ (h): 591 ^[83]	IC ₅₀ (h): 968 ^[83]	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	
(-)-CP-47,497	K _i (r): 9,54 ± 0,35 ^[24] K _i (r): 2,2 ± 0,47 ^[25]	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	[16, 18, 19, 25, 26, 183, 187]	[187, 229]
(-)-CP-47,497-C ₈ /	K _i (r): 4,73 ± 1,34 ^[24]	n. b.	IC ₅₀ (h): 15,4 ^[179]	n. b.	n. b.	[25, 26, 183, 179, 187, 229]	

Substanz	Affinitätsassays <i>in vitro</i> *		Aktivitätsassays <i>in vitro</i> *		Aktivitätsassays		sonstige Testungen
	CB ₁ [nM]	CB ₂ [nM]	CB ₁ [nM]	CB ₂ [nM]	<i>ex vivo</i>	<i>in vivo</i>	
TMCP-H	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
UR-144	K _i (h): 150 ^[42] K _i (h): 29 ^[182]	K _i (h): 1,8 ^[42] K _i (h): 4,5 ^[182]	EC ₅₀ (h): 98 ^[182]	EC ₅₀ (h): 29-43 ^[42] EC ₅₀ (h): 334 ^[182]	n. b.	^[182]	n. b.
UR-144 Isomer	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
UR-144 5-Chlorpenty-Derivat	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
WIN 48,098/Pravadolin	K _i (r): 2511 ± 177 ^[29] IC ₅₀ (r): 3155 ± 54 ^[28, 30, 31]	n. b.	n. b.	n. b.	^[27-31]	^[27, 28]	^[27]
XLR-11/FUR-144/UR-144-5F	K _i (h): 24 ^[182]	K _i (h): 2,1 ^[182]	EC ₅₀ (h): 159 ^[182]	EC ₅₀ (h): 145 ^[182]	n. b.	^[182]	n. b.
XLR-11 Isomer	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.

* Variierende Werte für dieselbe Substanz beruhen auf unterschiedlichen Versuchsbedingungen (siehe Kapitel 1.3.3 im Anhang)

n. b.: nicht bekannt, (h): human, (m): Maus (r): Ratte, ^a racemisch

2.3 Betäubungsmittelrechtliche Maßnahmen zur Unterstellung synthetischer Cannabinoide in Deutschland

Tabelle III Rechtliche Maßnahmen des Gesetzgebers zur Unterstellung identifizierter synthetischer Cannabinoide unter das Betäubungsmittelgesetz (BtMG).

Datum	Ereignis	Substanzen	Referenz
22.01.2009	Im Rahmen der 22. BtMÄndV dem BtMG unterstellt	CP-47,497, CP-47,497-C ₆ , CP-47,497-C ₈ , CP-47,497-C ₉ , JWH-018	[52]
22.01.2010	Im Rahmen der 24. BtMÄndV dem BtMG unterstellt	JWH-019, JWH-073	[102]
03.05.2010	Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel empfiehlt zur Unterstellung	JWH-200, JWH-250	[90]
06.12.2010	Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel empfiehlt zur Unterstellung	JWH-015, JWH-081, JWH-122	[91]
02.05.2011	Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel empfiehlt zur Unterstellung	AB-001, AM-694, JWH-007, JWH-203, JWH-210, JWH-251, RCS-4	[92]
11.07.2012	Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel empfiehlt zur Unterstellung	AM-2201, AM-1220, AM-1220 Azepan-Isomer, JWH-307, MAM-2201, RCS-4 <i>ortho</i> Isomer, UR-144	[82]
26.07.2012	Im Rahmen der 26. BtMÄndV dem BtMG unterstellt	AB-001, AM-694, JWH-007, JWH-015, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-203, JWH-210, JWH-250, JWH-251, RCS-4	[69]
03.12.2012	Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel empfiehlt zur Unterstellung	AKB48, AKB48-5F, AM-2232, AM-2233, XLR-11	[339]
16.07.2013	Im Rahmen der 27. BtMÄndV dem BtMG unterstellt	AKB48, AKB48-5F, AM-1220, AM-1220 Azepan-Isomer, AM-2201, AM-2232, AM-2233, JWH-307, MAM-2201, RCS-4 <i>ortho</i> Isomer, UR-144, XLR-11	[93]

3 Auszug aus dem Poison Severity Score

Tabelle IV Auszug aus dem „Poisoning Severity Score“ (Standardskala für eine Bewertung der Schwere akuter Vergiftungszustände)^[156]. Das schwerste Symptom bestimmt den Schweregrad der Vergiftung.

	leicht = 1	mittelschwer = 2	schwer = 3
Gastrointestinal-Trakt	Erbrechen, Diarrhö, Bauchschmerzen	Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall jeweils länger als 2 Stunden, leichte Schluckstörung	starkes Bluterbrechen, Perforation, schwere Schluckstörung
Atmungssystem	Reizgefühl, Husten, Kurzatmigkeit, leichte Atemnot	anhaltender Husten, Bronchospasmus, Atemnot, reduzierte arterielle Sauerstoffsättigung	manifeste Ateminsuffizienz (z. B. schwerer Bronchospasmus)
Nervensystem	Benommenheit, Schwindel, Ataxie, innere Unruhe; leichte extrapyramidal-motorische Bewegungsstörungen, Missempfinden, leichte Seh- oder Hörstörungen	Bewusstlosigkeit mit gezielter Reaktion auf Schmerzreize; kurzer Atemstillstand, verlangsamte Atmung, Verwirrtheit, Agitiertheit, Halluzination, Delir, vereinzelte Krampfanfälle (lokal oder generalisiert), starke Seh- oder Hörstörungen	Bewusstlosigkeit ohne oder mit ungezielter Reaktion auf Schmerzreize, Atemantreibsstörung, extrem starke Agitiertheit, häufige Krampfanfälle oder Status epilepticus, Opisthotonus, generalisierte oder lebensbedrohliche Muskellähmung, Erblindung oder Taubheit
Herz-Kreislauf-System	isolierte Extrasystolen; leichter oder kurzzeitiger Blutdruckanstieg oder Blutdruckabfall	mäßige Sinusbradykardie (Erw.: HF ca. 40 – 50/min), mäßige Sinustachykardie (Erw.: HF ca. 140 – 180/min), häufige Extrasystolen, AV-Block I-II°, verbreiteter QRS-Komplex oder verlängerte QT-Zeit, Repolarisationsstörungen, starker Blutdruckanstieg oder Blutdruckabfall	schwere Sinusbradykardie (Erw.: HF < 40 – 50/min), schwere Sinustachykardie (Erw.: HF > 180/min), lebensbedrohliche Herzrhythmusstörungen, AV-block III°, Herzstillstand, Kreislaufchock, hypertensive Krise
Stoffwechsel	leichte Elektrolytstörungen (K^+ 3,0 – 3,4 mmol/L), leichte Hypoglykämie (Erw.: 50 – 70 mg/dL), kurzzeitige Hyperthermie	mäßige Elektrolytstörungen (K^+ 2,5 – 2,9 mmol/L), mäßige Hypoglykämie (Erw.: 30 – 50 mg/dL), anhaltende Hyperthermie	schwere Elektrolytstörungen (K^+ < 2,5 mmol/L), schwere Hypoglykämie (Erw.: < 30 mg/dL oder 1,7 mmol/L), lebensbedrohliche Hyper- oder Hypothermie
Muskulatur	leichte Muskelschmerzen, Muskelverspannung; CK: 250 – 1500 U/L	Muskelschmerzen, -versteifung, -krämpfe, -zuckungen, Rhabdomyolyse (CK 1.500 – 10.000 U/L)	schwere Muskelschmerzen, -versteifung, -krämpfe, -zuckungen; Rhabdomyolyse mit Komplikationen (CK > 10.000 U/L)

HF: Herzfrequenz, CK: Creatin-Kinase

4.1 Analyseergebnisse des Produktmonitorings

Tabelle V Ergebnisse zur qualitativen Untersuchung von Räuchermischungen (RM) im Zeitraum zwischen März 2010 bis Dezember 2012. Die quantitative Abschätzung für jedes einzelne Produkt erfolgte anhand der relativen Signalintensitäten der enthaltenen Substanzen zueinander im GC/MS Full-Scan Totalionenchromatogramm. Die Produktnamen der RM wurden kodiert.

[illegible]

[illegible]

	XLR-11	UR-144	RCS-4 ortho Isomer	RCS-4	MAM-2201	JWH-398	JWH-307	JWH-251	JWH-250	JWH-210	JWH-203	JWH-200	JWH-122	JWH-081	JWH-073	JWH-019	JWH-018	JWH-015	CRA-13	CP-47,497-C ₈	Canabipiperidi- ethanon	AKB48 (APINACA)	APICA	AM-694	AM-2232	AM-2201	AM-1248	AM-1220 Azepan-Isomer	AM-1220	AB-001	Analyse- datum	Produkt
RM051	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM051	
RM052	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM052	
RM053	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM053	
RM054	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM054	
RM055	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM055	
RM056	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM056	
RM057	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.01.2011	RM057	
RM058	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM058	
RM059	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM059	
RM060	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM060	
RM061	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM061	
RM062	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM062	
RM063	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM063	
RM064	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM064	
RM065	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM065	
RM066	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM066	
RM067	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM067	
RM068	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.01.2011	RM068	
RM069	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26.01.2011	RM069	
RM070	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26.01.2011	RM070	
RM071	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	04.02.2011	RM071	
RM072	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.02.2011	RM072	
RM073	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.02.2011	RM073	
RM074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.02.2011	RM074	
RM075	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	15.02.2011	RM075	
RM076	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.02.2011	RM076	
RM077	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.02.2011	RM077	
RM078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.02.2011	RM078	
RM079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.02.2011	RM079	
RM080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.02.2011	RM080	

[illegible]

	XLR-11	UR-144	RCS-4 ortho Isomer	RCS-4	MAM-2201	JWH-398	JWH-307	JWH-251	JWH-250	JWH-210	JWH-203	JWH-200	JWH-122	JWH-081	JWH-073	JWH-019	JWH-018	JWH-015	CRA-13	CP-47,497-C ₈	Canabipiperidi- ethanon	AKB48 (APINACA)	APICA	AM-694	AM-2232	AM-2201	AM-1248	AM-1220 Azepan-Isomer	AM-1220	AB-001	Analyse- datum	Produkt
RM111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	07.03.2011	RM111	
RM112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	07.03.2011	RM112	
RM113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM113	
RM114	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM114	
RM115	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM115	
RM116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM116	
RM117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM117	
RM118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM118	
RM119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM119	
RM120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM120	
RM121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM121	
RM122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM122	
RM123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM123	
RM124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM124	
RM125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	08.03.2011	RM125	
RM126	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM126	
RM127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM127	
RM128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM128	
RM129	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM129	
RM130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM130	
RM131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM131	
RM132	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM132	
RM133	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM133	
RM134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM134	
RM135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	09.03.2011	RM135	
RM136	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.03.2011	RM136	
RM137	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.03.2011	RM137	
RM138	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.03.2011	RM138	
RM139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.03.2011	RM139	
RM140	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.03.2011	RM140	

[illegible]

XL-R-11	UR-144	RCS-4	ortho Isomer	RCS-4	MAM-2201	JWH-398	JWH-307	JWH-251	JWH-250	JWH-210	JWH-203	JWH-200	JWH-122	JWH-081	JWH-073	JWH-019	JWH-018	JWH-015	CRA-13	CP-47,497-C ₈	Cannabipiperidi-ethanon	AKB48 (APINACA)	APICA	AM-694	AM-2232	AM-2201	AM-1248	AM-1220	Azeperan-Isomer	AB-001	Analysen-datum	Produkt
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01.04.2011	RM171	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01.04.2011	RM172	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01.04.2011	RM173	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04.04.2011	RM174	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.04.2011	RM175	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.04.2011	RM176	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	11.04.2011	RM177	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.04.2011	RM178	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.04.2011	RM179	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04.05.2011	RM180	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04.05.2011	RM181	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04.05.2011	RM182	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04.05.2011	RM183	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04.05.2011	RM184	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	06.05.2011	RM185	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	06.05.2011	RM186	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	06.05.2011	RM187	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	06.05.2011	RM188	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	06.05.2011	RM189	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.05.2011	RM190	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.05.2011	RM191	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.05.2011	RM192	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.05.2011	RM193	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30.05.2011	RM194	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	30.05.2011	RM195	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30.05.2011	RM196	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30.05.2011	RM197	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30.05.2011	RM198	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	03.06.2011	RM199	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	03.06.2011	RM200	

[illegible]

[illegible]

Produkt	Analysen- datum	AB-001	AM-1220 Azepan-Isomer	AM-1248	AM-2201	AM-2232	AM-694	APICA	AKB48 (APINACA)	Cannabipiperidi- ethanon	CP-47,497-C ₈	CRA-13	JWH-015	JWH-018	JWH-019	JWH-073	JWH-081	JWH-122	JWH-200	JWH-210	JWH-250	JWH-251	JWH-307	JWH-398	MANM-2201	RCS-4	RCS-4 ortho Isomer	UR-144	XLR-11
RM261	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM262	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM263	07.12.2011	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM264	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM265	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM266	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-
RM267	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM268	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM269	07.12.2011	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM270	07.12.2011	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM271	07.12.2011	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	H	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM272	05.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-
RM273	12.01.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM274	12.01.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM275	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM276	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM277	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM278	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM279	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM280	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	S	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM281	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM282	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM283	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM284	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	H	S	-	-	-	-	-	-	-	-
RM285	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM286	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM287	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-
RM288	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-
RM289	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM290	12.01.2012	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Produkt	Analysen- datum	AB-001	AM-1220	Azepan-Isomer	AM-1220	AM-1248	AM-2201	AM-2232	AM-694	APICA	AKB48 (APINACA)	Canabipiperidi- ethanon	CP-47,497-C ₈	CRA-13	JWH-015	JWH-018	JWH-019	JWH-073	JWH-081	JWH-122	JWH-200	JWH-210	JWH-203	JWH-250	JWH-251	JWH-307	JWH-398	MAM-2201	RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	RCS-4	UR-144	XL-R-11
RM291	12.01.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM292	12.01.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM293	12.01.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM294	16.01.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM295	20.01.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM296	20.01.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM297	20.01.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM298	20.01.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM299	01.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM300	13.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-
RM301	13.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-
RM302	13.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-
RM303	13.02.2012	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-
RM304	13.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-
RM305	13.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM306	13.02.2012	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-
RM307	13.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM308	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM309	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM310	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM311	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM312	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM313	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM314	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM315	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM316	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM317	16.02.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM318	21.02.2012	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-
RM319	21.02.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM320	08.03.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H

[illegible]

[illegible]

Produkt	Analysen- datum	AB-001	AM-1220	AM-1220 Azepan-Isomer	AM-1248	AM-2201	AM-2232	AM-694	APICA	AKB48 (APINACA)	Cannabipiperidi- ethanon	CP-47,497-C ₈	CRA-13	JWH-015	JWH-018	JWH-019	JWH-073	JWH-081	JWH-122	JWH-200	JWH-203	JWH-210	JWH-250	JWH-251	JWH-307	JWH-398	MAM-2201	RCS-4	ortho Isomer	RCS-4	UR-144	XLR-11
RM381	20.11.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM382	20.11.2012	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM383	20.11.2012	H	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM384	20.11.2012	H	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM385	20.11.2012	H	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM386	20.11.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM387	20.11.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM388	20.11.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM389	20.11.2012	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM390	20.11.2012	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM391	20.11.2012	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM392	20.11.2012	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM393	20.11.2012	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM394	20.11.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H
RM395	14.12.2012	H	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM396	16.12.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	H	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM397	16.12.2012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RM398	16.12.2012	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

H: Substanz als Hauptinhaltsstoff vorliegend

S: Substanz in Spuren vorliegend

4.2 NMR-Daten

4.2.1 AB-001

Tabelle VI ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von AB-001 (Substanz **1**) in CDCl_3 bei Raumtemperatur. Für die Zuordnung der chemischen Verschiebungen siehe Abbildung 11.

Kohlenstoff Nr.	$\delta ^1\text{H}$ -NMR [ppm]	$\delta ^{13}\text{C}$ -NMR [ppm]
2	7,94 (s, 1H)	133,0
3	-	128,6
3a	-	112,8
4	8,51-8,56 (m, 1H)	123,5
5	7,25-7,33 (m, 1H)	122,3
6	7,25-7,33 (m, 1H)	123,0
7	7,33-7,39 (m, 1H)	109,4
7a	-	135,6
8	-	201,9
1'	4,18 (t, $J=7,3$ Hz, 2H)	47,0
2'	1,91 (quint., $J=7,26$ Hz, 2H)	29,6
3'	1,34-1,42 (m, 2H)	29,1
4'	1,34-1,42 (m, 2H)	22,2
5'	0,93 (t, $J=6,7$ Hz, 3H)	13,9
1''	-	46,9
2''	1,84 (br. s, 6H)	36,9
3''	2,12-2,18 (m, 3H)	28,6
4''	2,12-2,18 (m, 6H)	40,6

4.2.2 AM-1220 und dessen Azepan-Isomer

Tabelle VII ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von AM-1220 (Substanz **2**) und dessen Azepan-Isomer (Substanz **3**) in CDCl_3 bei Raumtemperatur. Angegeben sind ebenso die relevanten HMBC-Signale. Für die Zuordnung der chemischen Verschiebungen siehe Abbildung 17 und Abbildung 18.

Atom Nr.	AM-1220		AM-1220 Azepan-Isomer		HMBC
	δ ^1H -NMR [ppm]	δ ^{13}C -NMR [ppm]	δ ^1H -NMR [ppm]	δ ^{13}C -NMR [ppm]	
1	-	-	-	-	-
2	7,40 (s, 1H)	138,6	7,68 (s, 1H)	135,7	8, 3, 3a, 7a, 1''
3	-	117,8	-	117,8	-
3a	-	126,8	-	126,7	-
4	8,45-8,55 (m, 1H)	122,9	8,44-8,54 (m, 1H)	122,8	6, 7a
5	7,35-7,40 (m, 1H)	122,9	7,32-7,40 (m, 1H)	122,8	-
6	7,35-7,40 (m, 1H)	123,7	7,32-7,40 (m, 1H)	123,5	-
7	7,41-7,45 (m, 1H)	110,0	7,47-7,51 (m, 1H)	110,0	-
7a	-	137,4	-	136,7	-
8	-	192,0	-	192,0	-
1'	-	138,9	-	139,1	-
2'	7,69 (dd, 7,07 Hz, 1,10 Hz, 1H)	125,9	7,68 (dd, 7,0 Hz, 1,3 Hz, 1H)	125,9	4', 8
3'	7,55 (dt, 7,10 Hz, 1,04 Hz, 1H)	124,5	7,51-7,56 (m, 1H)	124,5	1', 4'a
4'	8,00 (d, 8,48 Hz, 1H)	130,1	8,00 (d, 8,34 Hz, 1H)	129,9	2', 8'a
4'a	-	133,8	-	133,7	-
5'	7,93 (d, 8,27 Hz, 1H)	128,1	7,94 (d, 8,37 Hz, 1H)	128,1	7', 8'a
6'	7,50-7,60 (m, 1H)	126,3	7,49-7,57 (m, 1H)	126,2	-
7'	7,46-7,52 (m, 1H)	126,7	7,45-7,52 (m, 1H)	126,7	-
8'	8,23 (d, 8,33 Hz, 1H)	126,0	8,24 (d, 8,32 Hz, 1H)	126,0	1', 4'a
8'a	-	130,8	-	130,8	-
1''	4,55 (dd, 14,15 Hz, 4,16 Hz, 1H); 3,87 (dd, 14,15 Hz, 3,87 Hz, 1H)	49,7	4,52-4,62 (m, 1H)	56,6	-
2''	2,35-2,45 (m, 1H)	62,6	2,13-2,26 (m, 1H);	34,0	-

Atom Nr.	AM-1220		AM-1220 Azepan-Isomer		HMBC
	δ ¹ H-NMR [ppm]	δ ¹³ C-NMR [ppm]	δ ¹ H-NMR [ppm]	δ ¹³ C-NMR [ppm]	
3''	1,0-1,2 (m, 1H); 1,25-1,3 (m, 1H)	29,8	1,89-2,00 (m, 1H) 1,60-1,70 (m, 1H); 1,74-1,83 (m, 1H)	23,0	-
4''	1,0-1,2 (m, 1H); 1,55-1,70 (m 1H)	23,3	1,63-1,71 (m, 1H); 1,78-1,87 (m, 1H)	28,8	-
5''	1,40-1,50 (m, 1H); 1,55-1,65 (m, 1H)	25,4	2,56-2,66 (m, 2H)	59,3	-
6''	2,80-2,90 (m, 1H); 2,13 (dt, 11,9 Hz, 3,2 Hz, 1H)	57,0	2,93 (dd, 13,68 Hz, 4,08 Hz, 1H) 2,82 (dd, 13,68 Hz, 6,84 Hz, 1H)	62,7	-
7''	2,42 (s, 3H)	43,5	2,31 (s, 3H)	48,0	-

5 Validierungsergebnisse für LC/ESI-MS/MS-Methoden

5.1 Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen Serumproben

Tabelle VIII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in Humanserum. Kalibrationsbereiche und Nachweisgrenzen (LOD) aller Analyten sowie die entsprechenden zur Quantifizierung zugewiesenen internen Standards.

Analyt	LOD [ng/mL]	Kalibrationsbereich [ng/mL]	Kleinstes Korrelationskoeffizient (R) (n=6)	Interner Standard
AB-001	0,80	-	-	-
AM-1220	0,03	0,1 - 2,0	0,9982	<i>D</i> ₇ -Flunitrazepam
AM-2201	0,02	0,1 - 2,0	0,9975	<i>D</i> ₉ -JWH-073
AM-2233	0,02	0,1 - 2,0	0,9977	<i>D</i> ₇ -Flunitrazepam
AM-694	0,02	0,1 - 2,0	0,9975	<i>D</i> ₉ -JWH-073
CRA-13	2,00	-	-	-
JWH-007	0,03	0,1 - 2,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-007
JWH-015	0,01	0,1 - 2,0	0,9975	<i>D</i> ₇ -JWH-015
JWH-018	0,02	0,1 - 2,0	0,9975	<i>D</i> ₁₁ -JWH-018
JWH-019	0,03	0,1 - 2,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-020	0,03	0,1 - 2,0	0,9971	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-073	0,02	0,1 - 2,0	0,9978	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-081	0,02	0,1 - 2,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-081
JWH-122	0,02	0,1 - 2,0	0,9972	<i>D</i> ₉ -JWH-122
JWH-200	0,02	0,1 - 2,0	0,9969	<i>D</i> ₅ -JWH-200
JWH-203	0,05	0,1 - 2,0	0,9981	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-210	0,07	0,1 - 2,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-250	0,03	0,1 - 2,0	0,9978	<i>D</i> ₅ -JWH-250
JWH-251	0,02	0,1 - 2,0	0,9971	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-307	0,02	0,1 - 2,0	0,9979	<i>D</i> ₉ -JWH-081
JWH-387	0,40	2,0 - 40	0,9970	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-398	0,10	0,5 - 10	0,9961	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-412	0,03	0,1 - 2,0	0,9975	<i>D</i> ₉ -JWH-081
MAM-2201	0,02	0,1 - 2,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-073
Methanandamid	0,50	0,5 - 10	0,9939	<i>D</i> ₉ -JWH-007
RCS-4	0,02	0,1 - 2,0	0,9987	<i>D</i> ₉ -JWH-073
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,03	-	-	-
RCS-8	0,03	0,1 - 2,0	0,9971	<i>D</i> ₉ -JWH-122
WIN 48,098	0,03	0,1 - 2,0	0,9974	<i>D</i> ₅ -JWH-200
WIN 55,212-2	0,02	0,1 - 2,0	0,9971	<i>D</i> ₃ -11-OH-THC

Tabelle IX LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in Humanserum. Bias, intraday und interday Impräzision aller mit der LC/ESI-MS/MS-Methode quantifizierbaren Analyten.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Bias [%]	Intraday Impräzision [%]	Interday Impräzision [%]	Konzentration [ng/mL]	Bias [%]	Intraday Impräzision [%]	Interday Impräzision [%]
AM-1220	0,3	3,6	2,8	3,7	1,0	8,4	0,9	1,4
AM-2201	0,3	1,7	4,0	4,6	1,0	4,2	3,5	3,7
AM-2233	0,3	4,1	2,5	3,8	1,0	5,7	2,1	2,1
AM-694	0,3	0,1	4,4	4,8	1,0	2,9	2,6	3,1
JWH-007	0,3	0,6	2,9	2,9	1,0	1,6	1,9	2,8
JWH-015	0,3	3,4	2,6	3,4	1,0	3,7	3,7	3,7
JWH-018	0,3	2,8	3,7	3,7	1,0	4,7	2,9	3,7
JWH-019	0,3	3,9	2,7	2,7	1,0	4,5	1,3	1,5
JWH-020	0,3	-2,4	3,7	4,0	1,0	-1,7	2,4	4,2
JWH-073	0,3	0,2	3,6	3,6	1,0	3,3	3,3	3,3
JWH-081	0,3	2,1	4,2	4,2	1,0	3,6	2,7	2,8
JWH-122	0,3	1,6	2,9	4,1	1,0	2,9	1,8	2,4
JWH-200	0,3	0,9	2,9	2,9	1,0	3,1	2,1	2,4
JWH-203	0,3	1,9	4,0	4,0	1,0	4,1	2,9	3,2
JWH-210	0,3	0,3	4,7	4,7	1,0	2,3	3,0	3,0
JWH-250	0,3	2,4	2,5	3,5	1,0	5,3	2,0	2,2
JWH-251	0,3	1,2	4,5	4,5	1,0	2,9	2,5	2,9
JWH-307	0,3	0,6	4,8	4,8	1,0	3,1	2,9	3,0
JWH-387	6,0	-1,6	4,5	5,2	20	-1,5	2,5	4,4
JWH-398	1,5	0,4	5,5	5,5	5,0	0,8	2,8	3,6
JWH-412	0,3	2,4	4,1	4,1	1,0	3,0	2,3	2,8
MAM-2201	0,3	-2,4	4,1	4,1	1,0	0,6	3,6	3,6
Methanandamid	1,5	1,8	2,6	5,8	5,0	3,1	4,8	4,8
RCS-4	0,3	3,3	3,9	3,9	1,0	4,6	1,6	2,3
RCS-8	0,3	1,1	1,6	4,0	1,0	2,1	1,9	2,7
WIN 48,098	0,3	-2,4	3,0	3,0	1,0	-0,9	3,2	3,2
WIN 55,212-2	0,3	1,2	3,8	3,8	1,0	2,5	3,0	3,7

Tabelle X LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in Humanserum. Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessaussbeuten aller Analyten und internen Standards auf dem niedrigen Konzentrationsniveau (n=5). Die Matrixeffekte wurden mittels zweier verschiedener Methoden ausgewertet: (1) Vergleich der absoluten Peakflächen, (2) Vergleich der relativen Peakflächenverhältnisse (Peakfläche Analyt/Peakfläche interner Standard).

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
AB-001	6,0	72	5,8	-	-	46	24,1	33	22,9
AM-1220	0,3	133	2,2	76	4,0	47	3,0	63	4,9
AM-2201	0,3	116	4,4	110	3,5	49	3,1	56	4,9
AM-2233	0,3	135	1,4	76	2,9	44	2,9	60	4,1
AM-694	0,3	127	3,5	120	2,1	44	3,6	55	3,2
CRA-13	12	16	16,2	-	-	10	42,1	1	31,9
JWH-007	0,3	71	3,7	100	1,4	46	13,0	32	12,4
JWH-015	0,3	119	3,0	100	3,8	53	4,0	63	4,6
JWH-018	0,3	69	3,9	86	1,7	47	11,3	32	11,3
JWH-019	0,3	61	5,4	125	3,6	38	17,5	23	20,0
JWH-020	0,3	40	5,6	84	3,6	24	25,7	10	25,3
JWH-073	0,3	104	3,0	99	1,4	52	6,6	54	5,4
JWH-081	0,3	75	4,8	93	1,6	40	13,3	30	14,5
JWH-122	0,3	65	3,8	96	1,4	41	14,6	27	14,9
JWH-200	0,3	132	1,7	99	1,3	32	3,0	42	4,4
JWH-203	0,3	99	3,6	94	2,7	55	7,4	54	6,8
JWH-210	0,3	48	5,9	99	1,6	30	20,0	14	21,2
JWH-250	0,3	115	3,0	100	0,6	52	4,1	60	4,6
JWH-251	0,3	100	6,1	95	4,5	55	7,9	54	7,0
JWH-307	0,3	71	4,8	89	2,0	31	16,8	22	18,0
JWH-387	6,0	40	6,9	83	4,9	27	29,2	11	29,0
JWH-398	1,5	39	6,8	81	4,1	31	23,2	12	24,6
JWH-412	0,3	59	3,7	74	3,4	46	15,4	27	16,2
MAM-2201	0,3	102	3,5	97	1,5	48	6,2	49	6,0
Methanandamid	1,5	116	0,7	164	3,2	11	10,2	13	10,7
RCS-4	0,3	115	2,2	110	3,4	51	2,5	59	2,9

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	128	4,9	-	-	25	9,9	32	5,5
RCS-8	0,3	75	4,8	112	1,2	43	12,5	33	13,8
WIN 48,098	0,3	133	1,4	99	1,4	17	4,5	22	5,7
WIN 55,212-2	0,3	130	2,0	95	1,1	33	4,5	43	5,9
Interne Standards									
<i>D</i> ₉ -JWH-007	0,50	71	3,6	-	-	48	11,7	34	12,8
<i>D</i> ₇ -JWH-015	0,25	120	6,0	-	-	52	7,2	62	5,1
<i>D</i> ₁₁ -JWH-018	0,50	80	3,1	-	-	49	10,9	39	11,3
<i>D</i> ₉ -JWH-073	0,25	105	3,5	-	-	53	4,7	56	4,2
<i>D</i> ₉ -JWH-081	0,50	80	5,2	-	-	42	14,6	34	16,5
<i>D</i> ₉ -JWH-122	0,75	67	5,1	-	-	42	17,5	28	19,0
<i>D</i> ₅ -JWH-200	1,0	134	2,1	-	-	32	3,3	43	4,6
<i>D</i> ₉ -JWH-210	2,0	48	6,4	-	-	31	21,7	15	23,8
<i>D</i> ₅ -JWH-250	0,50	115	2,9	-	-	51	3,9	59	3,9
<i>D</i> ₃ -11-OH-THC	25	137	1,2	-	-	4	13,6	5	14,5
<i>D</i> ₇ -Flunitrazepam	25	176	2,2	-	-	21	2,9	37	1,2

Tabelle XI LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in Humanserum. Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessaussbeuten aller Analyten auf dem hohen Konzentrationsniveau (n=5). Die Matrixeffekte wurden mittels zweier verschiedener Methoden ausgewertet: (1) Vergleich der absoluten Peakflächen, (2) Vergleich der relativen Peakflächenverhältnisse (Peakfläche Analyt/Peakfläche interner Standard).

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
AB-001	20	72	4,4	-	-	43	13,1	31	15,1
AM-1220	1,0	124	6,9	100	3,0	50	12,8	61	7,7
AM-2201	1,0	100	7,7	118	1,8	52	10,2	51	3,7
AM-2233	1,0	126	6,6	101	2,3	46	12,8	58	8,0
AM-694	1,0	114	7,7	134	2,1	45	13,4	51	6,8
CRA-13	40	21	12,6	-	-	6	20,4	1	24,0
JWH-007	1,0	64	8,2	102	2,8	41	11,1	26	12,2
JWH-015	1,0	103	7,4	106	2,9	56	11,7	57	5,7
JWH-018	1,0	59	5,0	95	3,2	43	8,5	25	9,2
JWH-019	1,0	52	9,8	130	3,1	30	13,6	16	14,0
JWH-020	1,0	35	10,3	87	2,7	16	13,4	5	17,7
JWH-073	1,0	87	7,9	102	1,9	53	10,1	45	4,3
JWH-081	1,0	61	9,4	95	1,8	34	10,9	21	11,6
JWH-122	1,0	54	7,5	101	3,5	33	10,6	18	13,8
JWH-200	1,0	125	6,3	103	0,6	32	11,7	40	6,6
JWH-203	1,0	74	8,0	88	3,1	55	9,0	41	6,9
JWH-210	1,0	41	6,1	104	3,8	22	12,5	9	16,2
JWH-250	1,0	97	7,6	101	3,3	55	10,4	53	4,4
JWH-251	1,0	85	7,1	100	1,7	55	8,9	47	3,1
JWH-307	1,0	62	8,0	96	1,9	25	12,5	16	15,2
JWH-387	20	44	8,9	111	4,4	20	16,6	9	21,5
JWH-398	5,0	37	8,4	93	4,3	22	14,8	8	19,2
JWH-412	1,0	52	7,9	81	1,0	36	11,2	19	12,3
MAM-2201	1,0	86	8,7	101	3,0	48	11,0	41	5,8
Methanandamid	5,0	108	9,3	172	1,8	12	14,3	12	9,4
RCS-4	1,0	97	9,5	114	3,6	54	13,4	52	6,7

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	1,0	112	7,5	-	-	27	15,5	30	9,4
RCS-8	1,0	63	7,7	117	3,4	37	10,7	23	11,2
WIN 48,098	1,0	124	6,4	103	0,7	16	11,0	19	6,6
WIN 55,212-2	1,0	112	7,7	100	1,9	34	14,3	40	8,8

Tabelle XII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in Humanserum. Autosamplerstabilität aller Analyten über einen Untersuchungszeitraum von 9 h.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]
AB-001	6,0	102	98	98	20	102	95	96
AM-1220	0,3	99	100	97	1,0	101	99	99
AM-2201	0,3	101	98	101	1,0	100	100	99
AM-2233	0,3	102	101	101	1,0	99	98	99
AM-694	0,3	101	101	102	1,0	99	100	100
CRA-13	12	104	94	98	40	106	99	94
JWH-007	0,3	97	98	95	1,0	100	95	96
JWH-015	0,3	99	101	100	1,0	100	98	101
JWH-018	0,3	102	103	98	1,0	101	102	99
JWH-019	0,3	101	98	98	1,0	101	98	99
JWH-020	0,3	99	95	96	1,0	107	95	100
JWH-073	0,3	101	98	98	1,0	101	100	100
JWH-081	0,3	100	97	98	1,0	102	99	98
JWH-122	0,3	102	102	99	1,0	103	100	99
JWH-200	0,3	100	98	98	1,0	99	97	99
JWH-203	0,3	103	103	103	1,0	99	100	100
JWH-210	0,3	100	96	97	1,0	105	98	99
JWH-250	0,3	100	100	100	1,0	100	97	100
JWH-251	0,3	95	94	100	1,0	99	99	97
JWH-307	0,3	96	98	95	1,0	101	98	100
JWH-387	6,0	100	97	95	20	105	98	97
JWH-398	1,5	104	100	99	5,0	109	97	97
JWH-412	0,3	99	95	94	1,0	101	97	93
MAM-2201	0,3	101	100	102	1,0	101	98	99
Methanandamid	1,5	99	97	96	5,0	97	94	94
RCS-4	0,3	102	98	101	1,0	103	103	98
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	102	99	99	1,0	99	99	102
RCS-8	0,3	96	97	97	1,0	102	98	98
WIN 48,098	0,3	97	94	97	1,0	102	98	98

Analyt	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]
WIN 55,212-2	0,3	99	99	98	1,0	100	99	100
Interne Standards								
<i>D</i> ₉ -JWH-007	0,50	99	99	98	-	-	-	-
<i>D</i> ₇ -JWH-015	0,25	101	94	94	-	-	-	-
<i>D</i> ₁₁ -JWH-018	0,50	97	99	98	-	-	-	-
<i>D</i> ₉ -JWH-073	0,25	100	100	97	-	-	-	-
<i>D</i> ₉ -JWH-081	0,50	97	93	94	-	-	-	-
<i>D</i> ₉ -JWH-122	0,75	95	95	91	-	-	-	-
<i>D</i> ₅ -JWH-200	1,0	100	99	98	-	-	-	-
<i>D</i> ₉ -JWH-210	2,0	104	101	100	-	-	-	-
<i>D</i> ₅ -JWH-250	0,5	97	101	97	-	-	-	-
<i>D</i> ₃ -11-OH-THC	25	100	97	97	-	-	-	-
<i>D</i> ₇ -Flunitrazepam	25	102	101	102	-	-	-	-

Tabelle XIII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in Humanserum. Einfrier-/Auftaustabilität (EAS, 3 Zyklen) sowie Langzeitstabilität (LZS, 2 Wochen) aller mit der LC/ESI-MS/MS Methode quantifizierbaren Analyten (n=6).

Analyt	Konzentration [ng/mL]	EAS [%]	RSD [%]	LZS [%]	RSD [%]	Konzentration [ng/mL]	EAS [%]	RSD [%]	LZS [%]	RSD [%]
AM-1220	0,3	94	1,4	102	2,4	1,0	102	2,1	102	1,1
AM-2201	0,3	100	3,9	104	2,7	1,0	100	4,5	102	2,3
AM-2233	0,3	95	1,2	103	2,7	1,0	98	2,6	104	1,2
AM-694	0,3	101	4,0	109	2,8	1,0	103	4,2	107	1,7
JWH-007	0,3	102	4,0	103	2,5	1,0	103	4,0	103	1,9
JWH-015	0,3	101	1,6	103	4,0	1,0	94	4,1	99	3,8
JWH-018	0,3	100	3,1	99	5,0	1,0	99	3,8	103	1,3
JWH-019	0,3	97	1,6	100	1,8	1,0	97	3,9	97	1,6
JWH-020	0,3	101	1,9	105	4,8	1,0	101	4,4	102	4,2
JWH-073	0,3	98	2,2	100	3,3	1,0	99	4,2	102	2,4
JWH-081	0,3	100	4,8	106	1,4	1,0	101	2,5	103	2,5
JWH-122	0,3	101	4,3	102	2,3	1,0	99	1,1	101	1,6
JWH-200	0,3	101	1,9	106	4,7	1,0	101	2,8	104	1,1
JWH-203	0,3	100	2,3	98	1,6	1,0	99	3,3	101	1,7
JWH-210	0,3	97	1,6	100	3,4	1,0	99	5,2	101	2,9
JWH-250	0,3	98	2,0	99	1,6	1,0	99	3,8	97	1,5
JWH-251	0,3	99	2,2	103	2,7	1,0	100	3,9	101	4,5
JWH-307	0,3	103	3,9	101	5,0	1,0	103	2,0	102	3,7
JWH-387	6,0	98	4,4	100	4,4	20	107	3,5	103	4,8
JWH-398	1,5	98	2,3	103	3,8	5,0	105	3,4	101	2,7
JWH-412	0,3	101	4,0	104	2,9	1,0	103	2,5	103	3,2
MAM-2201	0,3	99	2,4	102	4,4	1,0	100	2,7	106	2,0
Methanandamid	1,5	111	5,2	109	3,9	5,0	104	5,3	101	4,1
RCS-4	0,3	99	3,0	102	1,9	1,0	100	2,5	107	1,8
RCS-8	0,3	99	4,2	104	3,1	1,0	98	2,4	100	1,5
WIN 48,098	0,3	106	1,6	105	2,5	1,0	102	4,1	103	2,6
WIN 55,212-2	0,3	97	2,8	99	2,4	1,0	99	4,6	100	2,2

5.2 Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen OF-Proben

Tabelle XIV LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in OF. Kalibrationsbereiche und Nachweisgrenzen (LOD) aller Analyten sowie die entsprechenden zur Quantifizierung zugewiesenen internen Standards.

Analyt	LOD [ng/mL]	Kalibrationsbereich [ng/mL]	Kleinstes Korrelationskoeffizient (R) (n=6)	Interner Standard
AB-001	0,900	3,0 - 60	0,9929	<i>D</i> ₉ -JWH-210
AM-1220	0,030	0,15 - 6,0	0,9984	<i>D</i> ₅ -JWH-200
AM-2201	0,015	0,15 - 6,0	0,9977	<i>D</i> ₉ -JWH-073
AM-2233	0,015	0,15 - 6,0	0,9989	<i>D</i> ₅ -JWH-200
AM-694	0,015	0,15 - 6,0	0,9975	<i>D</i> ₉ -JWH-073
CRA-13	0,600	-	-	-
JWH-007	0,015	0,15 - 6,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-007
JWH-015	0,015	0,15 - 6,0	0,9960	<i>D</i> ₇ -JWH-015
JWH-018	0,015	0,15 - 6,0	0,9947	<i>D</i> ₁₁ -JWH-018
JWH-019	0,030	0,15 - 6,0	0,9948	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-020	0,030	0,15 - 6,0	0,9972	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-073	0,015	0,15 - 6,0	0,9986	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-081	0,015	0,15 - 6,0	0,9977	<i>D</i> ₉ -JWH-081
JWH-122	0,030	0,15 - 6,0	0,9989	<i>D</i> ₉ -JWH-122
JWH-200	0,015	0,15 - 6,0	0,9992	<i>D</i> ₅ -JWH-200
JWH-203	0,045	0,15 - 6,0	0,9982	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-210	0,045	0,15 - 6,0	0,9978	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-250	0,030	0,15 - 6,0	0,9962	<i>D</i> ₅ -JWH-250
JWH-251	0,016	0,15 - 6,0	0,9991	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-307	0,030	-	-	-
JWH-387	0,300	3,0 - 120	0,9968	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-398	0,150	0,75 - 30	0,9986	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-412	0,045	0,15 - 6,0	0,9982	<i>D</i> ₉ -JWH-081
MAM-2201	0,030	0,15 - 6,0	0,9984	<i>D</i> ₉ -JWH-073
Methanandamid	0,200	0,75 - 30	0,9977	<i>D</i> ₉ -JWH-007
RCS-4	0,033	0,15 - 6,0	0,9967	<i>D</i> ₉ -JWH-073
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,015	0,15 - 3,0	0,9955	<i>D</i> ₉ -JWH-073
RCS-8	0,030	0,15 - 6,0	0,9967	<i>D</i> ₉ -JWH-122
WIN 48,098	0,030	0,15 - 6,0	0,9985	<i>D</i> ₅ -JWH-200
WIN 55,212-2	0,020	0,15 - 6,0	0,9991	<i>D</i> ₉ -JWH-073

Tabelle XV LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in OF. Bias, intraday und interday Impräzision aller mit der LC/ESI-MS/MS Methode quantifizierbaren Analyten.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Bias [%]	Intraday Impräzision [%]	Interday Impräzision [%]	Konzentration [ng/mL]	Bias [%]	Intraday Impräzision [%]	Interday Impräzision [%]
AB-001	6,0	1,7	6,2	7,7	60	-7,5	5,2	6,6
AM-1220	0,3	1,1	2,1	4,8	3,0	3,4	5,1	5,7
AM-2201	0,3	-0,8	2,2	4,8	3,0	2,8	3,1	4,3
AM-2233	0,3	1,3	3,6	4,8	3,0	1,9	3,5	3,8
AM-694	0,3	-1,9	3,3	4,8	3,0	-1,9	4,3	5,4
JWH-007	0,3	-1,7	2,1	5,2	3,0	3,1	2,3	3,6
JWH-015	0,3	-2,9	2,7	5,8	3,0	4,6	2,9	2,9
JWH-018	0,3	-1,7	6,3	6,3	3,0	1,0	4,2	5,7
JWH-019	0,3	-0,5	4,7	5,9	3,0	-0,4	5,7	7,9
JWH-020	0,3	-0,4	4,2	4,9	3,0	4,2	4,7	6,2
JWH-073	0,3	-0,4	1,7	5,2	3,0	1,7	3,4	4,0
JWH-081	0,3	1,0	4,9	5,6	3,0	4,0	3,2	3,3
JWH-122	0,3	-0,9	5,9	5,9	3,0	1,8	3,2	4,8
JWH-200	0,3	-1,4	1,5	3,8	3,0	0,8	2,3	3,1
JWH-203	0,3	3,0	5,5	6,7	3,0	0,8	3,2	5,6
JWH-210	0,3	0,4	3,9	5,9	3,0	2,6	3,2	4,6
JWH-250	0,3	-1,7	3,3	5,4	3,0	3,0	3,3	3,7
JWH-251	0,3	-1,1	3,6	3,6	3,0	3,0	2,0	5,6
JWH-387	6,0	0,8	3,8	7,1	60	5,5	4,1	5,1
JWH-398	1,5	-2,0	2,3	4,4	15	1,5	4,6	5,1
JWH-412	0,3	-0,8	2,6	5,6	3,0	0,5	2,7	3,6
MAM-2201	0,3	0,0	3,9	4,6	3,0	2,3	3,3	5,4
Methanandamid	1,5	-0,4	6,0	6,5	15	2,8	5,8	5,8
RCS-4	0,3	-1,5	2,8	5,9	3,0	1,9	2,8	4,7
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	-0,8	3,8	5,1	3,0	-1,5	3,0	4,9
RCS-8	0,3	-2,0	6,4	6,4	3,0	2,7	2,3	4,9
WIN 48,098	0,3	-1,3	5,9	6,3	3,0	2,1	3,4	4,2
WIN 55,212-2	0,3	-2,4	3,3	4,4	3,0	1,3	3,9	4,5

Tabelle XVI LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in OF. Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessausbeuten aller Analyten auf dem niedrigen Konzentrationsniveau (n=5). Die Matrixeffekte wurden mittels zweier verschiedener Methoden ausgewertet: (1) Vergleich der absoluten Peakflächen, (2) Vergleich der relativen Peakflächenverhältnisse (Peakfläche Analyt/Peakfläche interner Standard).

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
AB-001	6,0	55	4,2	87	5,2	44	16,5	24	13,5
AM-1220	0,3	75	2,3	93	2,4	80	11,6	60	10,9
AM-2201	0,3	73	4,4	103	4,6	77	12,1	56	13,6
AM-2233	0,3	73	3,5	90	3,7	80	11,0	59	9,9
AM-694	0,3	77	4,9	109	2,0	81	13,0	62	9,5
CRA-13	12	31	10,3	-	-	14	18,6	4	18,9
JWH-007	0,3	60	5,0	93	3,1	59	11,3	35	10,2
JWH-015	0,3	72	6,2	97	3,5	77	10,9	56	9,1
JWH-018	0,3	83	6,6	105	7,1	62	14,4	52	12,7
JWH-019	0,3	68	5,2	108	5,9	49	13,5	33	9,2
JWH-020	0,3	58	6,9	92	7,5	36	18,1	21	13,3
JWH-073	0,3	71	3,4	101	1,4	72	10,6	51	9,3
JWH-081	0,3	71	5,1	102	4,8	59	12,5	42	9,4
JWH-122	0,3	67	2,9	92	5,4	53	10,6	35	11,1
JWH-200	0,3	77	4,2	95	2,3	78	10,2	60	8,5
JWH-203	0,3	75	4,1	106	1,9	69	11,2	51	9,8
JWH-210	0,3	61	8,1	96	7,0	41	16,5	25	15,8
JWH-250	0,3	69	5,1	95	5,7	78	12,1	53	8,7
JWH-251	0,3	68	4,1	97	3,4	74	10,1	50	10,6
JWH-307	0,3	82	8,0	-	-	43	12,5	36	8,7
JWH-387	6,0	60	6,5	95	6,0	35	18,1	21	15,4
JWH-398	1,5	60	4,7	94	4,3	38	16,4	23	15,7
JWH-412	0,3	63	4,2	90	5,2	54	16,8	34	13,8
MAM-2201	0,3	64	6,4	91	4,4	73	13,5	47	8,5
Methanandamid	1,5	71	5,9	110	4,0	69	15,4	49	12,6
RCS-4	0,3	72	5,7	102	2,5	77	11,4	55	9,7

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	72	4,2	102	1,5	79	12,0	57	10,2
RCS-8	0,3	73	9,1	101	8,0	57	10,9	41	7,2
WIN 48,098	0,3	72	5,9	89	5,8	78	10,5	56	14,7
WIN 55,212-2	0,3	71	5,5	101	4,4	79	10,2	56	9,4
Interne Standards									
<i>D</i> ₉ -JWH-007	0,50	65	4,8	-	-	58	12,4	37	9,3
<i>D</i> ₇ -JWH-015	0,25	74	4,1	-	-	76	10,5	56	9,5
<i>D</i> ₁₁ -JWH-018	0,50	79	3,9	-	-	60	11,9	48	13,0
<i>D</i> ₉ -JWH-073	0,25	71	3,4	-	-	72	13,6	51	11,6
<i>D</i> ₉ -JWH-081	0,50	70	4,0	-	-	56	12,7	39	12,9
<i>D</i> ₉ -JWH-122	0,75	72	5,8	-	-	53	15,7	38	10,8
<i>D</i> ₅ -JWH-200	1,0	81	4,4	-	-	75	8,8	61	7,8
<i>D</i> ₉ -JWH-210	2,0	63	4,5	-	-	39	15,9	25	13,5
<i>D</i> ₅ -JWH-250	0,50	73	6,4	-	-	72	10,6	53	11,6

Tabelle XVII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in OF. Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessaussbeuten aller Analyten auf dem hohen Konzentrationsniveau (n=5). Die Matrixeffekte wurden mittels zweier verschiedener Methoden ausgewertet: (1) Vergleich der absoluten Peakflächen, (2) Vergleich der relativen Peakflächenverhältnisse (Peakfläche Analyt/Peakfläche interner Standard).

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
AB-001	60	72	6,1	102	7,3	57	16,8	41	14,5
AM-1220	3,0	77	4,7	99	7,7	81	7,9	62	6,7
AM-2201	3,0	78	6,9	107	5,5	81	11,8	63	8,8
AM-2233	3,0	77	5,0	99	5,3	83	7,7	64	4,3
AM-694	3,0	80	6,3	110	7,7	84	11,0	67	7,7
CRA-13	120	35	7,8	-	-	19	15,7	6	11,9
JWH-007	3,0	70	3,6	97	5,2	60	16,1	42	15,0
JWH-015	3,0	77	6,9	104	4,9	82	11,7	63	5,9
JWH-018	3,0	87	9,9	109	4,2	68	16,8	59	15,7
JWH-019	3,0	72	9,9	102	5,2	54	19,0	38	18,2
JWH-020	3,0	65	9,5	93	4,1	39	20,4	25	19,4
JWH-073	3,0	76	6,4	104	6,9	75	14,4	57	11,5
JWH-081	3,0	81	14,3	109	15,0	61	17,9	48	10,7
JWH-122	3,0	74	9,9	97	8,5	57	13,2	42	15,4
JWH-200	3,0	79	7,4	101	4,2	82	8,4	65	5,8
JWH-203	3,0	79	8,5	109	3,7	73	14,0	58	10,9
JWH-210	3,0	71	10,0	100	4,6	42	18,9	29	20,6
JWH-250	3,0	76	5,9	102	4,3	81	7,8	61	6,8
JWH-251	3,0	74	6,6	101	5,4	76	11,6	56	9,2
JWH-307	3,0	85	13,1	-	-	48	16,3	40	13,3
JWH-387	60	67	8,7	95	3,9	41	19,2	27	18,1
JWH-398	15	68	5,7	96	5,4	43	19,5	29	20,1
JWH-412	3,0	69	7,1	94	12,7	58	17,0	40	14,0
MAM-2201	3,0	74	7,7	101	5,5	74	16,3	55	12,5
Methanandamid	15	76	7,2	106	7,6	72	9,1	54	5,8
RCS-4	3,0	77	7,9	105	6,8	83	11,3	63	8,8

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	3,0	79	3,9	109	7,7	86	8,6	68	7,3
RCS-8	3,0	80	9,9	104	7,4	63	14,2	50	11,0
WIN 48,098	3,0	75	9,7	96	7,1	81	8,3	61	2,0
WIN 55,212-2	3,0	76	8,3	104	10,7	82	11,1	62	8,9

Tabelle XVIII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in OF. Autosamplerstabilität aller Analyten über einen Untersuchungszeitraum von 7 h.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	4 h [%]	7 h [%]	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	4 h [%]	7 h [%]
AB-001	6,0	94	95	94	60	97	95	95
AM-1220	0,3	101	97	97	3,0	98	98	97
AM-2201	0,3	100	99	100	3,0	97	97	98
AM-2233	0,3	102	98	97	3,0	103	97	98
AM-694	0,3	100	98	100	3,0	98	98	97
CRA-13	12	94	91	91	120	95	94	91
JWH-007	0,3	102	99	101	3,0	97	96	94
JWH-015	0,3	99	100	96	3,0	97	99	100
JWH-018	0,3	98	97	95	3,0	98	98	96
JWH-019	0,3	94	93	95	3,0	98	97	98
JWH-020	0,3	100	99	99	3,0	95	94	95
JWH-073	0,3	100	102	101	3,0	98	97	97
JWH-081	0,3	94	97	92	3,0	95	94	92
JWH-122	0,3	95	93	90	3,0	97	95	92
JWH-200	0,3	101	98	100	3,0	98	99	97
JWH-203	0,3	97	95	95	3,0	98	96	97
JWH-210	0,3	104	91	99	3,0	102	98	97
JWH-250	0,3	103	102	101	3,0	99	99	98
JWH-251	0,3	101	99	102	3,0	102	100	100
JWH-307	0,3	97	98	93	3,0	99	97	97
JWH-387	6,0	92	90	90	60	95	95	90
JWH-398	1,5	97	95	95	15	98	95	93
JWH-412	0,3	97	101	100	3,0	97	97	95
MAM-2201	0,3	95	92	95	3,0	101	99	97
Methanandamid	1,5	102	100	96	15	101	101	100
RCS-4	0,3	99	103	96	3,0	98	100	97
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	103	101	99	3,0	97	98	98
RCS-8	0,3	99	95	89	3,0	100	98	90
WIN 48,098	0,3	99	99	100	3,0	99	98	100

Analyt	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	4 h [%]	7 h [%]	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	4 h [%]	7 h [%]
WIN 55,212-2	0,3	104	101	105	3,0	97	102	103
Interne Standards								
<i>D₉</i> -JWH-007	0,50	98	98	95	-	-	-	-
<i>D₇</i> -JWH-015	0,25	97	100	99	-	-	-	-
<i>D₁₁</i> -JWH-018	0,50	97	94	93	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-073	0,25	101	102	102	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-081	0,50	99	100	96	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-122	0,75	100	94	90	-	-	-	-
<i>D₅</i> -JWH-200	1,0	100	98	98	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-210	2,0	95	94	91	-	-	-	-
<i>D₅</i> -JWH-250	0,5	99	99	101	-	-	-	-

Tabelle XIX LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 30 synthetischen Cannabinoiden in OF. Wiederfindungen der Analyten vom Speichelsammler DCD 5000 nach Lagerung unter Lichtausschluss für 5 min und 3 d bei Raumtemperatur (22 – 27 °C, n=3). Die Stabilisierung der Probensammler wurde durch Zugabe von 1 mL Ethanol erreicht.

Analyt	5 min [%]	RSD [%]	3 d, unstabilisiert [%]	RSD [%]	3 d, stabilisiert [%]	RSD [%]
AB-001	14	12,5	n. n.	-	69	7,6
AM-1220	48	9,8	6	7,5	69	4,2
AM-2201	35	14,8	< 5	-	74	1,4
AM-2233	63	6,6	14	6,6	76	3,5
AM-694	41	8,1	< 5	-	82	4,2
JWH-007	20	14,0	< 5	-	59	5,7
JWH-015	29	12,9	< 5	-	64	1,8
JWH-018	20	15,2	< 5	-	59	1,2
JWH-019	19	15,1	< 5	-	72	8,2
JWH-020	18	13,6	n. n.	-	43	8,0
JWH-073	22	16,4	< 5	-	60	4,2
JWH-081	23	18,5	< 5	-	59	8,3
JWH-122	20	11,2	< 5	-	62	2,6
JWH-200	68	5,7	19	4,6	79	4,3
JWH-203	17	17,4	n. n.	-	52	4,6
JWH-210	19	14,1	n. n.	-	60	7,0
JWH-250	25	14,5	n. n.	-	59	7,7
JWH-251	19	15,9	< 5	-	58	4,8
JWH-387	18	13,7	< 5	-	55	6,8
JWH-398	18	13,2	< 5	-	64	5,4
JWH-412	18	17,0	n. n.	-	64	8,9
MAM-2201	32	10,1	< 5	-	65	4,6
Methanandamid	26	15,3	< 5	-	50	9,2
RCS-4	22	16,6	n. n.	-	65	4,7
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	44	8,7	< 5	-	87	6,7
RCS-8	21	12,3	< 5	-	65	3,6
WIN 48,098	77	5,1	36	4,5	85	2,4
WIN 55,212-2	50	8,2	25	7,0	88	4,5

n. n.: nicht nachweisbar

5.3 Methode zum Nachweis synthetischer Cannabinoide in humanen nOF-Proben

Tabelle XX LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 28 synthetischen Cannabinoiden in nOF. Kalibrationsbereiche und Nachweisgrenzen (LOD) aller Analyten sowie die entsprechenden zur Quantifizierung zugewiesenen internen Standards.

Analyt	LOD [ng/mL]	Kalibrationsbereich [ng/mL]	Kleinsten Korrelationskoeffizient (R) (n=6)	Interner Standard
AM-1220	0,07	0,2 – 5,0	0,9991	<i>D</i> ₅ -JWH-200
AM-2201	0,02	0,2 – 5,0	0,9987	<i>D</i> ₉ -JWH-073
AM-2233*	0,04	0,2 – 5,0	0,9987	<i>D</i> ₅ -JWH-200
AM-694	0,02	0,2 – 5,0	0,9986	<i>D</i> ₇ -JWH-015
JWH-007	0,02	0,2 – 5,0	0,9989	<i>D</i> ₉ -JWH-007
JWH-015	0,02	0,2 – 5,0	0,9988	<i>D</i> ₇ -JWH-015
JWH-018	0,02	0,2 – 5,0	0,9989	<i>D</i> ₁₁ -JWH-018
JWH-019	0,02	0,2 – 5,0	0,9986	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-020	0,02	0,2 – 5,0	0,9986	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-073	0,02	0,2 – 5,0	0,9983	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-081	0,02	0,2 – 5,0	0,9988	<i>D</i> ₉ -JWH-081
JWH-122	0,02	0,2 – 5,0	0,9976	<i>D</i> ₉ -JWH-122
JWH-200	0,03	0,2 – 5,0	0,9994	<i>D</i> ₅ -JWH-200
JWH-203	0,03	0,2 – 5,0	0,9983	<i>D</i> ₇ -JWH-015
JWH-210	0,02	0,2 – 5,0	0,9982	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-250	0,02	0,2 – 5,0	0,9964	<i>D</i> ₅ -JWH-250
JWH-251	0,02	0,2 – 5,0	0,9989	<i>D</i> ₉ -JWH-073
JWH-307	0,02	0,2 – 5,0	0,9970	<i>D</i> ₉ -JWH-081
JWH-387	0,40	4,0 – 100	0,9965	<i>D</i> ₉ -JWH-210
JWH-398	0,10	1,0 – 25	0,9968	<i>D</i> ₉ -JWH-398
JWH-412	0,02	0,2 – 5,0	0,9987	<i>D</i> ₉ -JWH-081
MAM-2201	0,02	0,2 – 5,0	0,9987	<i>D</i> ₁₁ -JWH-018
Methanandamid	0,20	1,0 – 25	0,9984	<i>D</i> ₉ -JWH-007
RCS-4	0,02	0,2 – 5,0	0,9983	<i>D</i> ₉ -RCS-4
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,02	0,2 – 5,0	0,9972	<i>D</i> ₇ -JWH-015
RCS-8	0,02	0,2 – 5,0	0,9975	<i>D</i> ₉ -JWH-122
WIN 48,098*	0,04	0,2 – 5,0	0,9986	<i>D</i> ₅ -JWH-200
WIN 55,212-2	0,02	0,2 – 5,0	0,9985	<i>D</i> ₇ -JWH-015

* Lediglich semi-quantitative Bestimmung auf Grund zu hoher Matrixeffekte.

Tabelle XXI LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 28 synthetischen Cannabinoiden in nOF. Bias, intraday und interday Impräzision aller mit der LC/ESI-MS/MS Methode quantifizierbaren Analyten.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Bias [%]	Intraday Impräzision [%]	Interday Impräzision [%]	Konzentration [ng/mL]	Bias [%]	Intraday Impräzision [%]	Interday Impräzision [%]
AM-1220	0,4	-1,2	3,8	8,6	2,5	2,6	1,6	4,0
AM-2201	0,4	-2,3	3,3	7,9	2,5	1,4	1,8	4,7
AM-2233*	0,4	2,5	2,5	7,3	2,5	1,7	1,4	5,6
AM-694	0,4	0,0	3,3	8,1	2,5	0,6	2,7	3,5
JWH-007	0,4	0,8	4,0	5,6	2,5	1,3	2,4	3,0
JWH-015	0,4	-0,1	2,7	7,4	2,5	1,4	1,6	3,7
JWH-018	0,4	-1,5	3,5	7,7	2,5	2,1	2,0	4,3
JWH-019	0,4	-2,8	3,3	8,1	2,5	0,7	2,3	4,0
JWH-020	0,4	0,8	1,9	6,2	2,5	0,9	1,8	5,2
JWH-073	0,4	1,1	2,8	6,2	2,5	2,1	1,7	3,9
JWH-081	0,4	-0,7	3,4	7,3	2,5	1,4	1,3	3,9
JWH-122	0,4	1,5	5,0	7,6	2,5	2,2	2,1	4,4
JWH-200	0,4	0,1	2,9	5,7	2,5	1,4	1,4	4,4
JWH-203	0,4	5,1	3,2	6,1	2,5	1,7	4,1	5,0
JWH-210	0,4	1,3	8,3	8,4	2,5	0,7	1,3	3,5
JWH-250	0,4	-6,0	6,8	12,1	2,5	2,5	2,1	5,2
JWH-251	0,4	-1,1	2,6	5,1	2,5	2,6	2,3	4,1
JWH-307	0,4	-2,0	3,2	7,5	2,5	1,7	1,4	4,0
JWH-387	8,0	-1,0	2,8	9,1	50	1,9	2,2	5,3
JWH-398	2,0	-0,2	4,7	8,3	12,5	2,2	1,3	4,0
JWH-412	0,4	-1,3	4,3	7,8	2,5	2,1	1,5	4,9
MAM-2201	0,4	0,4	4,2	8,9	2,5	2,7	2,2	3,9
Methanandamid	2,0	3,7	3,0	4,2	12,5	3,8	3,6	6,4
RCS-4	0,4	-0,3	2,5	8,0	2,5	1,6	1,5	4,5
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,4	-0,7	3,2	8,2	2,5	1,6	2,0	3,7
RCS-8	0,4	1,1	4,7	8,5	2,5	2,3	1,6	3,3
WIN 48,098*	0,4	0,8	3,0	7,6	2,5	1,1	1,5	4,8
WIN 55,212-2	0,4	-1,5	6,8	10,2	2,5	1,6	3,6	5,5

* Lediglich semi-quantitative Bestimmung auf Grund zu hoher Matrixeffekte

Tabelle XXII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 28 synthetischen Cannabinoiden in nOF. Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessausbeuten aller Analyten und internen Standards auf dem niedrigen Konzentrationsniveau (n=6). Die Matrixeffekte wurden mittels zweier verschiedener Methoden ausgewertet: (1) Vergleich der absoluten Peakflächen, (2) Vergleich der relativen Peakflächenverhältnisse (Peakfläche Analyt/Peakfläche interner Standard).

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
AM-1220	0,4	58	12,7	119	13,9	71	8,8	41	12,6
AM-2201	0,4	50	39,2	92	10,7	74	6,9	37	38,4
AM-2233	0,4	44	15,6	90	13,5	69	6,8	31	21,6
AM-694	0,4	73	21,3	107	6,5	74	4,4	53	21,5
JWH-007	0,4	70	27,6	108	3,9	77	6,8	54	28,0
JWH-015	0,4	75	26,7	109	10,6	75	16,0	55	23,2
JWH-018	0,4	65	31,2	92	12,0	78	10,8	50	29,6
JWH-019	0,4	74	33,4	109	16,1	77	11,2	57	32,6
JWH-020	0,4	68	36,3	98	7,0	73	11,1	49	37,1
JWH-073	0,4	67	21,0	121	5,9	75	4,6	50	44,8
JWH-081	0,4	78	33,8	102	4,4	75	8,9	58	34,8
JWH-122	0,4	76	33,5	104	4,1	76	9,5	57	34,8
JWH-200	0,4	51	25,7	102	6,1	72	4,4	37	26,4
JWH-203	0,4	60	31,3	88	16,3	73	6,9	44	31,3
JWH-210	0,4	74	30,8	109	15,4	76	11,0	56	32,6
JWH-250	0,4	47	44,4	97	6,1	74	4,1	35	44,9
JWH-251	0,4	47	34,1	87	6,8	72	8,6	34	36,6
JWH-307	0,4	77	35,2	100	8,2	72	8,2	56	36,7
JWH-387	8,0	70	37,3	102	12,6	73	12,9	51	37,6
JWH-398	2,0	69	35,6	101	4,9	75	9,6	51	36,5
JWH-412	0,4	74	29,4	98	3,4	73	9,0	54	32,7
MAM-2201	0,4	74	24,9	106	6,9	73	8,0	54	24,6
Methanandamid	2,0	73	24,0	115	9,0	73	7,5	54	26,9
RCS-4	0,4	56	34,2	89	10,2	69	20,0	38	34,9
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,4	68	15,9	101	7,5	76	4,0	52	16,8
RCS-8	0,4	74	36,1	99	5,5	75	8,1	55	37,9

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
WIN 48,098	0,4	57	11,7	118	20,0	72	4,3	41	12,9
WIN 55,212-2	0,4	68	21,2	100	4,0	76	6,8	51	19,4
Interne Standards									
<i>D</i> ₉ -JWH-007	0,625	65	26,6	-	-	76	7,7	49	27,6
<i>D</i> ₇ -JWH-015	0,625	68	20,8	-	-	77	6,9	52	22,2
<i>D</i> ₁₁ -JWH-018	0,625	71	26,4	-	-	77	6,9	54	28,7
<i>D</i> ₉ -JWH-073	1,25	53	28,8	-	-	75	4,3	40	28,9
<i>D</i> ₉ -JWH-081	0,875	76	30,6	-	-	74	5,8	56	32,0
<i>D</i> ₉ -JWH-122	0,75	73	32,7	-	-	77	8,1	56	33,5
<i>D</i> ₅ -JWH-200	1,50	50	21,3	-	-	72	4,3	36	24,3
<i>D</i> ₉ -JWH-210	2,50	68	30,1	-	-	75	7,5	50	28,7
<i>D</i> ₅ -JWH-250	1,25	48	43,5	-	-	74	5,9	36	40,9
<i>D</i> ₉ -JWH-398	6,25	62	30,6	-	-	76	15,2	46	27,2
<i>D</i> ₉ -RCS-4	0,625	64	31,3	-	-	80	14,2	50	27,1

Tabelle XXIII LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 28 synthetischen Cannabinoiden in nOF. Matrixeffekte, Wiederfindungen und Prozessausbeuten aller Analyten und internen Standards auf dem hohen Konzentrationsniveau (n=6). Die Matrixeffekte wurden mittels zweier verschiedener Methoden ausgewertet: (1) Vergleich der absoluten Peakflächen, (2) Vergleich der relativen Peakflächenverhältnisse (Peakfläche Analyt/Peakfläche interner Standard). Fettgedruckte Werte erfüllen nicht die Akzeptanzkriterien der GTFCh-Validierungsrichtlinien.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
AM-1220	2,5	56	11,6	116	13,5	71	5,8	40	14,6
AM-2201	2,5	57	38,1	90	7,6	75	4,9	43	37,5
AM-2233	2,5	45	14,6	93	15,1	72	3,1	32	17,2
AM-694	2,5	72	21,1	101	8,5	75	2,7	54	21,9
JWH-007	2,5	82	25,1	106	4,6	75	10,3	62	29,3
JWH-015	2,5	74	24,2	104	10,9	78	12,3	57	20,9
JWH-018	2,5	84	28,7	97	8,6	75	9,2	64	29,9
JWH-019	2,5	101	30,5	100	14,0	78	12,1	80	34,6
JWH-020	2,5	112	35,9	109	10,2	74	17,0	82	35,8
JWH-073	2,5	68	26,9	111	9,0	76	5,7	52	28,8
JWH-081	2,5	106	29,5	104	5,2	76	10,4	82	32,2
JWH-122	2,5	101	30,2	104	3,3	76	11,6	78	33,3
JWH-200	2,5	54	22,3	109	3,6	72	4,2	39	25,4
JWH-203	2,5	68	27,1	109	13,5	76	6,6	52	30,0
JWH-210	2,5	104	27,0	103	2,1	78	13,8	81	29,8
JWH-250	2,5	53	41,1	101	4,4	75	4,3	40	40,4
JWH-251	2,5	57	34,2	90	5,0	75	8,2	43	38,2
JWH-307	2,5	101	31,4	98	9,8	75	9,8	77	34,2
JWH-387	50	109	29,1	109	9,4	79	15,4	87	33,3
JWH-398	12,5	102	30,6	101	3,3	78	13,1	80	32,7
JWH-412	2,5	98	28,3	96	4,1	76	11,8	75	30,4
MAM-2201	2,5	90	21,7	105	6,4	73	8,7	67	25,5
Methanandamid	12,5	73	18,5	96	9,9	77	8,5	56	23,3
RCS-4	2,5	58	39,5	90	14,9	80	15,5	46	35,7
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	2,5	72	14,7	102	5,5	75	3,5	54	16,9

Analyt	Konzentration [ng/mL]	Matrixeffekt				Wieder- findung [%]	RSD [%]	Prozess- ausbeute [%]	RSD [%]
		Absolute Peakfläche [%]	RSD [%]	Relative Peakfläche [%]	RSD [%]				
RCS-8	2,5	96	30,2	99	4,6	76	11,7	74	33,2
WIN 48,098	2,5	55	12,8	115	20,4	72	3,3	40	14,7
WIN 55,212-2	2,5	66	21,2	93	6,0	75	2,4	50	20,7

Tabelle XXIV LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 28 synthetischen Cannabinoiden in nOF. Autosamplerstabilität aller Analyten über einen Untersuchungszeitraum von 9 h.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]
AM-1220	0,3	100	96	95	2,5	99	97	95
AM-2201	0,3	97	95	98	2,5	101	100	100
AM-2233	0,3	99	98	101	2,5	100	99	94
AM-694	0,3	98	100	98	2,5	98	98	98
JWH-007	0,3	102	101	103	2,5	101	99	99
JWH-015	0,3	100	102	102	2,5	101	103	101
JWH-018	0,3	100	101	104	2,5	99	98	99
JWH-019	0,3	101	97	96	2,5	100	101	94
JWH-020	0,3	99	93	95	2,5	96	92	91
JWH-073	0,3	95	96	99	2,5	98	99	100
JWH-081	0,3	101	98	99	2,5	100	99	100
JWH-122	0,3	95	97	99	2,5	98	95	97
JWH-200	0,3	100	100	99	2,5	98	97	96
JWH-203	0,3	103	99	103	2,5	97	100	99
JWH-210	0,3	96	95	94	2,5	95	95	93
JWH-250	0,3	99	96	99	2,5	100	100	100
JWH-251	0,3	104	97	104	2,5	100	100	98
JWH-307	0,3	99	96	99	2,5	99	97	100
JWH-387	6,0	99	96	96	50	97	97	94
JWH-398	1,5	99	100	97	12,5	100	97	94
JWH-412	0,3	102	99	101	2,5	95	96	99
MAM-2201	0,3	99	101	101	2,5	99	98	99
Methanandamid	1,5	99	99	103	12,5	101	100	101
RCS-4	0,3	99	99	100	2,5	100	99	98
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	100	98	102	2,5	99	100	101
RCS-8	0,3	100	97	95	2,5	98	97	96
WIN 48,098	0,3	99	98	99	2,5	100	99	100
WIN 55,212-2	0,3	97	96	99	2,5	98	100	99

Analyt	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]	Konzentration [ng/mL]	1 h [%]	5 h [%]	9 h [%]
Interne Standards								
<i>D₉</i> -JWH-007	0,625	98	96	96	-	-	-	-
<i>D₇</i> -JWH-015	0,625	99	98	100	-	-	-	-
<i>D₁₁</i> -JWH-018	0,625	98	99	100	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-073	1,25	99	101	101	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-081	0,875	100	100	97	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-122	0,75	101	96	99	-	-	-	-
<i>D₅</i> -JWH-200	1,50	99	99	98	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-210	2,50	102	98	96	-	-	-	-
<i>D₅</i> -JWH-250	1,25	100	99	98	-	-	-	-
<i>D₉</i> -JWH-398	6,25	104	103	103	-	-	-	-
<i>D₉</i> -RCS-4	25	102	101	102	-	-	-	-

Tabelle XXV LC/ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 28 synthetischen Cannabinoiden in nOF. Einfrier-/Auftaustabilität (EAS, 3 Zyklen) sowie Langzeitstabilität (LZS, 2 Wochen) aller mit der LC/ESI-MS/MS Methode quantifizierbaren Analyten (n=6). *Lediglich semi-quantitative Bestimmung auf Grund zu hoher Matrixeffekte.

Analyt	Konzentration [ng/mL]	EAS [%]	RSD [%]	LZS [%]	RSD [%]	Konzentration [ng/mL]	EAS [%]	RSD [%]	LZS [%]	RSD [%]
AM-1220	0,3	106	6,0	101	2,6	2,5	104	4,4	108	1,6
AM-2201	0,3	105	2,8	110	2,7	2,5	103	3,3	112	2,3
AM-2233*	0,3	102	6,8	111	1,3	2,5	97	5,8	113	3,5
AM-694	0,3	108	2,6	114	2,3	2,5	103	2,5	115	3,9
JWH-007	0,3	104	3,1	104	1,9	2,5	106	2,3	104	2,0
JWH-015	0,3	100	1,8	112	2,5	2,5	103	1,4	109	3,8
JWH-018	0,3	105	1,8	104	1,4	2,5	103	2,6	104	2,6
JWH-019	0,3	105	3,1	111	1,8	2,5	97	2,2	107	3,7
JWH-020	0,3	105	3,4	106	2,7	2,5	98	2,7	107	2,7
JWH-073	0,3	101	1,9	109	1,6	2,5	97	3,9	111	2,7
JWH-081	0,3	102	2,4	102	1,0	2,5	97	2,4	109	3,9
JWH-122	0,3	105	2,3	105	2,2	2,5	104	1,2	112	2,0
JWH-200	0,3	104	0,3	107	2,1	2,5	102	2,6	113	3,1
JWH-203	0,3	101	2,6	105	1,9	2,5	100	3,9	109	3,2
JWH-210	0,3	109	3,2	105	2,5	2,5	101	1,5	109	2,9
JWH-250	0,3	96	3,7	108	2,2	2,5	102	7,5	110	2,6
JWH-251	0,3	100	1,7	109	2,0	2,5	99	3,9	110	2,7
JWH-307	0,3	69	2,5	71	3,7	2,5	73	4,3	77	4,2
JWH-387	6,0	114	2,9	103	2,2	50	107	3,1	105	2,2
JWH-398	1,5	103	4,0	105	2,7	12,5	103	4,3	107	2,6
JWH-412	0,3	101	3,6	101	2,6	2,5	101	2,3	110	1,7
MAM-2201	0,3	104	1,8	107	1,1	2,5	99	4,0	112	3,2
Methanandamid	1,5	102	3,0	99	4,5	12,5	101	2,7	100	2,1
RCS-4	0,3	90	4,2	101	2,3	2,5	86	3,8	103	3,6
RCS-4 <i>ortho</i> Isomer	0,3	100	3,8	107	2,2	2,5	98	3,0	115	2,8
RCS-8	0,3	103	2,1	106	3,0	2,5	103	2,6	111	2,9
WIN 48,098*	0,3	109	4,6	110	0,6	2,5	105	4,2	113	3,3
WIN 55,212-2	0,3	100	4,0	107	2,9	2,5	96	3,7	109	3,3

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report 2013, *United Nations publication, Sales No. E.13.XI.6* **2013**, 1-115.
- [2] Y. Gaoni, R. Mechoulam. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1646-1647.
- [3] G.A. Thakur. Latest advances in cannabinoid receptor agonists. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19*, 1647-1673.
- [4] K. Mackie. Cannabinoid Receptors: Where They are and What They do. *J. Neuroendocrinol.* **2008**, *20*, 10-14.
- [5] R.G. Pertwee. *Cannabinoids*, (Herausgeber: R.G. Pertwee), Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg, **2005**.
- [6] A.C. Howlett, F. Barth, T.I. Bonner, G. Cabral, P. Casellas, W.A. Devane, C.C. Felder, M. Herkenham, K. Mackie, B.R. Martin, R. Mechoulam, R.G. Pertwee. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol. Rev.* **2002**, *54*, 161-202.
- [7] R.G. Pertwee, A.C. Howlett, M.E. Abood, S.P.H. Alexander, V. Di Marzo, M.R. Elphick, P.J. Greasley, H.S. Hansen, G. Kunos, K. Mackie, R. Mechoulam, R.A. Ross. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2. *Pharmacol. Rev.* **2010**, *62*, 588-631.
- [8] B. Szabo, E. Schlicker. Effects of cannabinoids on neurotransmission. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2005**, 327.
- [9] F.E. Kovacs, T. Knop, M.J. Urbanski, I. Freiman, T.M. Freiman, T.J. Feuerstein, J. Zentner, B. Szabo. Exogenous and Endogenous Cannabinoids Suppress Inhibitory Neurotransmission in the Human Neocortex. *Neuropsychopharmacol.* **2012**, *37*, 1104-1114.
- [10] F. Grotenhermen. Clinical Pharmacodynamics of Cannabinoids. *J. Cannabis Ther.* **2004**, *4*, 29-78.
- [11] G. Kunos, D. Osei-Hyiaman, S. Bátkai, K.A. Sharkey, A. Makriyannis. Should peripheral CB1 cannabinoid receptors be selectively targeted for therapeutic gain? *Trends Pharmacol. Sci.* **2009**, *30*, 1-7.
- [12] P. Pacher, S. Bátkai, G. Kunos. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.* **2006**, *58*, 389-462.
- [13] B.K. Atwood, K. Mackie. CB2: a cannabinoid receptor with an identity crisis. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *160*, 467-479.
- [14] L.E. Hollister. Health aspects of cannabis. *Pharmacol. Rev.* **1986**, *38*, 1-20.
- [15] W.L. Dewey. Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **1986**, *38*, 151-178.

- [16] A. Weissman, G.M. Milne, L.S. Melvin. Cannabimimetic activity from CP-47,497, a derivative of 3-phenylcyclohexanol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1982**, 223, 516-523.
- [17] J.W. Huffman. *The Cannabinoid Receptors*, (Herausgeber: P.H. Reggio), Humana Press, New York, **2009**.
- [18] M.R. Johnson, L.S. Melvin, G.M. Milne. Prototype cannabinoid analgetics, prostaglandins and opiates -- A search for points of mechanistic interaction. *Life Sci.* **1982**, 31, 1703-1706.
- [19] L.S. Melvin, M.R. Johnson, C.A. Harbert, G.M. Milne, A. Weissman. A cannabinoid derived prototypical analgesic. *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 67-71.
- [20] L.A. Matsuda, S.J. Lolait, M.J. Brownstein, A.C. Young, T.I. Bonner. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* **1990**, 346, 561-564.
- [21] W.A. Devane, F.A. Dysarz III, M.R. Johnson, L.S. Melvin, A.C. Howlett. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol. Pharmacol.* **1988**, 34, 605-613.
- [22] S. Munro, K.L. Thomas, M. Abu-Shaar. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* **1993**, 365, 61-65.
- [23] R.G. Pertwee. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol. Ther.* **1997**, 74, 129-180.
- [24] D.R. Compton, K.C. Rice, B.R. De Costa, R.K. Razdan, L.S. Melvin, M.R. Johnson, B.R. Martin. Cannabinoid structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1993**, 265, 218-226.
- [25] L.S. Melvin, G.M. Milne, M.R. Johnson, B. Subramaniam, G.H. Wilken, A.C. Howlett. Structure-activity relationships for cannabinoid receptor-binding and analgesic activity: studies of bicyclic cannabinoid analogs. *Mol. Pharmacol.* **1993**, 44, 1008-1015.
- [26] D.R. Compton, M.R. Johnson, L.S. Melvin, B.R. Martin. Pharmacological profile of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, 260, 201-209.
- [27] M.R. Bell, T.E. D'Ambra, V. Kumar, M.A. Eissenstat, J.L. Herrmann, J.R. Wetzel, D. Rosi, R.E. Phillion, S.J. Daum, D.J. Hlasta, R.K. Kullnig, J.H. Ackerman, D.R. Haubrich, D. Luttinger, E.R. Baizman, M.S. Miller, S.J. Ward. Antinociceptive (Aminoalkyl)indoles. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1099-1110.
- [28] T.E. D'Ambra, K.G. Estep, M.R. Bell, M.A. Eissenstat, K.A. Josef, S.J. Ward, D.A. Haycock, E.R. Baizman, F.M. Casiano, N.C. Beglin, S.M. Chippari, J.D. Grego, R.K. Kullnig, G.T. Daley. Conformationally restrained analogues of pravadoline: nanomolar potent, enantioselective, (aminoalkyl)indole agonists of the cannabinoid receptor. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 124-135.
- [29] J.E. Kuster, J.I. Stevenson, S.J. Ward, T.E. D'Ambra, D.A. Haycock. Aminoalkylindole binding in rat cerebellum: selective displacement by natural and synthetic cannabinoids. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1993**, 264, 1352-1363.
- [30] M.A. Eissenstat, M.R. Bell, T.E. D'Ambra, E.J. Alexander, S.J. Daum, J.H. Ackerman, M.D. Gruett, V. Kumar, K.G. Estep, E.M. Olefirowicz, J.R. Wetzel, M.D. Alexander, J.D. Weaver III, D.A. Haycock, D.A. Luttinger, F.M. Casiano, S.M. Chippari, J.E. Kuster, J.I. Stevenson, S.J. Ward.

- Aminoalkylindoles: Structure-Activity Relationships of Novel Cannabinoid Mimetics. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3094-3105.
- [31] T.E. D'Ambra, M.A. Eissenstat, J. Abt, J.H. Ackerman, E.R. Bacon, M.R. Bell, P.M. Carabateas, K.A. Josef, V. Kumar, J.D. Weaver, R. Arnold, F.M. Casiano, S.M. Chippari, D.A. Haycock, J.E. Kuster, D.A. Luttinger, J.I. Stevenson, S.J. Ward, W.A. Hill, A. Khanolkar, A. Makriyannis. C-Attached aminoalkylindoles: potent cannabinoid mimetics. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 17-22.
- [32] J.W. Huffman, D. Dai, B.R. Martin, D.R. Compton. Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 563-566.
- [33] V.M. Showalter, D.R. Compton, B.R. Martin, M.E. Abood. Evaluation of binding in a transfected cell line expressing a peripheral cannabinoid receptor (CB2): identification of cannabinoid receptor subtype selective ligands. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1996**, *278*, 989-999.
- [34] J.L. Wiley, D.R. Compton, D. Dai, J.A.H. Lainton, M. Phillips, J.W. Huffman, B.R. Martin. Structure-Activity Relationships of Indole- and Pyrrole-Derived Cannabinoids. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *285*, 995-1004.
- [35] M.M. Aung, G. Griffin, J.W. Huffman, M. Wu, C. Keel, B. Yang, V.M. Showalter, M.E. Abood, B.R. Martin. Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB(1) and CB(2) receptor binding. *Drug Alcohol Depend.* **2000**, *60*, 133-140.
- [36] A. Makriyannis, H. Deng. Cannabimimetic Indole Derivatives, *United States Patent Application US 6,900,236 B1*, **2005**.
- [37] J.W. Huffman, P.V. Szklennik, A. Almond, K. Bushell, D.E. Selley, H. He, M.P. Cassidy, J.L. Wiley, B.R. Martin. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles, a new class of cannabimimetic indoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4110-4113.
- [38] A. Makriyannis, H. Deng. Cannabimimetic Indole Derivatives, *United States Patent Application US 2008/0090871 A1*, **2008**.
- [39] J.L. Wiley, V.J. Smith, J. Chen, B.R. Martin, J.W. Huffman. Synthesis and pharmacology of 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles: Steric and electronic effects of 4- and 8-halogenated naphthoyl substituents. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 2067-2081.
- [40] J. Nakajima, M. Takahashi, R. Nonaka, T. Seto, J. Suzuki, M. Yoshida, C. Kanai, T. Hamano. Identification and quantitation of a benzoylindole (2-methoxyphenyl)(1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)methanone and a naphthoylindole 1-(5-fluoropentyl-1*H*-indol-3-yl)-(naphthalene-1-yl)ethanone (AM-2201) found in illegal products obtained via the Internet and their cannabimimetic effects evaluated by in vitro [³⁵S]GTPγS binding assays. *Forensic Toxicol.* **2011**, *29*, 132-141.
- [41] J.W. Huffman, G. Zengin, M.J. Wu, J. Lu, G. Hynd, K. Bushell, A.L. Thompson, S. Bushell, C. Tartal, D.P. Hurst, P.H. Reggio, D.E. Selley, M.P. Cassidy, J.L. Wiley, B.R. Martin. Structure-activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB(2) receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 89-112.
- [42] J.M. Frost, M.J. Dart, K.R. Tietje, T.R. Garrison, G.K. Grayson, A.V. Daza, O.F. El-Kouhen, B.B. Yao, G.C. Hsieh, M. Pai, C.Z. Zhu, P. Chandran, M.D. Meyer. Indol-3-ylcycloalkyl Ketones:

- Effects of N1 Substituted Indole Side Chain Variations on CB2 Cannabinoid Receptor Activity. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 295-315.
- [43] P. Griffiths, R. Sedefov, A. Gallegos, D. Lopez. How globalization and market innovation challenge how we think about and respond to drug use: 'Spice' a case study. *Addiction* **2010**, *105*, 951-953.
- [44] United Nations Office on Drugs and Crime. Synthetic Cannabinoids in Herbal Products, *UN Document ID number: SCITEC/24* **2011**, 1-24.
- [45] C. Piggee. Investigating a not-so-natural high. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 3205-3207.
- [46] Mitteilung der THC Pharm GmbH. Untersuchung des Handelsproduktes „Spice“, *erreichbar via <http://usualredant.de/drogen/download/analyse-thc-pharm-spice-jwh-018.pdf>* **2008**, 15.12.2008.
- [47] V. Auwärter, S. Dresen, W. Weinmann, M. Müller, M. Pütz, N. Ferreirós. 'Spice' and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *J. Mass. Spectrom.* **2009**, *44*, 832-837.
- [48] N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, N. Kawahara, Y. Goda. Identification of a cannabimimetic indole as a designer drug in a herbal product. *Forensic Toxicol.* **2009**, *27*, 61-66.
- [49] N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, N. Kawahara, Y. Haishima, Y. Goda. Identification of a Cannabinoid Analog as a New Type of Designer Drug in a Herbal Product. *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 439-441.
- [50] J. Ogata, N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. DNA sequence analyses of blended herbal products including synthetic cannabinoids as designer drugs. *Forensic Sci. Int.* **2013**, *227*, 33-41.
- [51] L. Cornara, B. Borghesi, C. Canali, M. Andrenacci, M. Basso, S. Federici, M. Labra. Smart drugs: green shuttle or real drug? *Int. J. Legal Med.* **2013**, *127*, 1109-1123.
- [52] Bundesgesetzblatt **Jahrgang 2009** Teil I Nr. 3, 22. Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften, 49, 21.01.2009.
- [53] R. Lindigkeit, A. Boehme, I. Eiserloh, M. Luebbecke, M. Wiggermann, L. Ernst, T. Beuerle. Spice: A never ending story? *Forensic Sci. Int.* **2009**, *191*, 58-63.
- [54] F. Westphal, T. Junge, F. Sönnichsen, P. Rösner, J. Schäper. Ein neuer Wirkstoff in SPICE-artigen Kräutermischungen: Charakterisierung von JWH-250, seinen Methyl- und Trimethylsilylderivaten. *Toxichem. Krimtech.* **2010**, *77* (1), 8-22.
- [55] F. Schifano, O. Corazza, P. Deluca, Z. Davey, L. Di Furia, M. Farre, L. Flesland, M. Mannonen, S. Pagani, T. Peltoniemi, C. Pezzolesi, N. Scherbaum, H. Siemann, A. Skutle, M. Torrents, P. Van Der Kreeft. Psychoactive drug or mystical incense? Overview of the online available information on Spice products. *Int. J. Cult. Ment. Health* **2009**, *2*, 137-144.
- [56] D. Castellanos, S. Singh, G. Thornton, M. Avila, A. Moreno. Synthetic Cannabinoid Use: A Case Series of Adolescents. *J. Adolesc. Health* **2011**, *49*, 347-349.
- [57] S. Every-Palmer. Synthetic cannabinoid JWH-018 and psychosis: An explorative study. *Drug Alcohol Depend.* **2011**, *117*, 152-157.

- [58] L. Fattore, W. Fratta. Beyond THC: The New Generation of Cannabinoid Designer Drugs. *Fronti. Behav. Neurosci.* **2011**, 5, 60.
- [59] V. Auwärter, S. Kneisel, M. Hutter, A. Thierauf. Synthetische Cannabinoide: Forensische Relevanz und Interpretation analytischer Befunde. *Rechtsmedizin* **2012**, 22, 259-271.
- [60] R. Vandrey, K.E. Dunn, J.A. Fry, E.R. Girling. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend.* **2012**, 120, 238-241.
- [61] M.J. Barratt, V. Cakic, S. Lenton. Patterns of synthetic cannabinoid use in Australia. *Drug Alcohol Rev.* **2013**, 32, 141-146.
- [62] A.R. Winstock, M.J. Barratt. Synthetic cannabis: A comparison of patterns of use and effect profile with natural cannabis in a large global sample. *Drug Alcohol Depend.* **2013**, 131, 106-111.
- [63] S. Kneisel, F. Westphal, P. Rösner, V. Brecht, A. Ewald, B. Klein, M. Pütz, S. Thiemt, V. Auwärter. Cannabinoidmimetika: Massenspektren und IR-ATR-Spektren neuer Verbindungen aus den Jahren 2009/2010. *Toxichem. Krimtech.* **2011**, 78, 23-35.
- [64] S. Kneisel, F. Westphal, P. Rösner, V. Brecht, A. Ewald, B. Klein, M. Pütz, S. Thiemt, V. Auwärter. Cannabimimetics: Mass spectra and IR-ATR spectra of new compounds from the years 2009 and 2010. *TIAFT Bull.* **2011**, 41 (1), 38-48.
- [65] S. Kneisel, F. Westphal, B. Moosmann, V. Brecht, P. Bisel, C. Vidal, A. Jacobsen-Bauer, W.-R. Bork, V. Auwärter. Trends auf dem Gebiet der synthetischen Cannabinoidmimetika: Massenspektren und ATR-IR-Spektren neuer Verbindungen aus dem Zeitraum Ende 2010 bis Ende 2011. *Toxichem. Krimtech.* **2011**, 78 (3), 468-479.
- [66] S. Kneisel, F. Westphal, B. Moosmann, V. Brecht, P. Bisel, C. Vidal, A. Jacobsen-Bauer, W.-R. Bork, V. Auwärter. Cannabimimetics II: Mass spectra and ATR-IR spectra of new compounds between the end of 2010 and late 2011. *TIAFT Bull.* **2011**, 41 (3), 29-38.
- [67] N. Uchiyama, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. URB-754: A new class of designer drug and 12 synthetic cannabinoids detected in illegal products. *Forensic Sci. Int.* **2012**, 227, 21-32.
- [68] S.D. Banister, S.M. Wilkinson, M. Longworth, J. Stuart, N. Apetz, K. English, L. Brooker, C. Goebel, D.E. Hibbs, M. Glass, M. Connor, I.S. McGregor, M. Kassiou. The synthesis and pharmacological evaluation of adamantane-derived indoles: novel cannabimimetic drugs of abuse. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, 4, 1081-1092.
- [69] Bundesgesetzblatt **Jahrgang 2012** Teil I Nr. 35, 26. Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften, 1639, 20.07.2012.
- [70] F. Westphal, F.D. Sönnichsen, S. Thiemt. Identification of 1-butyl-3-(1-(4-methyl)naphthoyl)indole in a herbal mixture. *Forensic Sci. Int.* **2012**, 215, 8-13.
- [71] L. Ernst, H.-M. Schiebel, C. Theuring, R. Lindigkeit, T. Beuerle. Identification and characterization of JWH-122 used as new ingredient in "Spice-like" herbal incenses. *Forensic Sci. Int.* **2011**, 208, e31-e35.
- [72] M. Bononi, P. Belgi, F. Tateo. Analytical Data for Identification of the Cannabimimetic Phenylacetylindole JWH-203. *J. Anal. Toxicol.* **2011**, 35, 360-363.

- [73] N. Uchiyama, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. Identification and quantitation of two cannabimimetic phenylacetylindoles JWH-251 and JWH-250, and four cannabimimetic naphthoylindoles JWH-081, JWH-015, JWH-200, and JWH-073 as designer drugs in illegal products. *Forensic Toxicol.* **2011**, 29, 25-37.
- [74] J. Nakajima, M. Takahashi, T. Seto, C. Kanai, J. Suzuki, M. Yoshida, T. Hamano. Identification and quantitation of two benzoylindoles AM-694 and (4-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone, and three cannabimimetic naphthoylindoles JWH-210, JWH-122, and JWH-019 as adulterants in illegal products obtained via the Internet. *Forensic Toxicol.* **2011**, 29, 95-110.
- [75] P. Jankovics, A. Váradi, L. Tölgyesi, S. Lohner, J. Németh-Palotás, J. Balla. Detection and identification of the new potential synthetic cannabinoids 1-pentyl-3-(2-iodobenzoyl)indole and 1-pentyl-3-(1-adamantoyl)indole in seized bulk powders in Hungary. *Forensic Sci. Int.* **2012**, 214, 27-32.
- [76] S. Kneisel, F. Westphal, P. Bisel, V. Brecht, S. Broecker, V. Auwärter. Identification and structural characterization of the synthetic cannabinoid 3-(1-adamantoyl)-1-pentylindole as an additive in 'herbal incense'. *J. Mass. Spectrom.* **2012**, 47, 195-200.
- [77] B. Moosmann, S. Kneisel, U. Girreser, V. Brecht, F. Westphal, V. Auwärter. Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system. *Forensic Sci. Int.* **2012**, 220, e17-e22.
- [78] S. Hudson, J. Ramsey, L. King, S. Timbers, S. Maynard, P.I. Dargan, D.M. Wood. Use of high-resolution accurate mass spectrometry to detect reported and previously unreported cannabinomimetics in "herbal high" products. *J. Anal. Toxicol.* **2010**, 34, 252-260.
- [79] H. Deng, A.N. Gifford, A.M. Zvonok, G. Cui, X. Li, P. Fan, J.R. Deschamps, J.L. Flippen-Anderson, S.J. Gatley, A. Makriyannis. Potent Cannabinergic Indole Analogues as Radioiodinatable Brain Imaging Agents for the CB1 Cannabinoid Receptor. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6386-6392.
- [80] P.G. Willis, O.A. Pavlova, S.I. Chefer, D.B. Vaupel, A.G. Mukhin, A.G. Horti. Synthesis and Structure-Activity Relationship of a Novel Series of Aminoalkylindoles with Potential for Imaging the Neuronal Cannabinoid Receptor by Positron Emission Tomography. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 5813-5822.
- [81] T.U.C. Järbe, H. Deng, S.K. Vadivel, A. Makriyannis. Cannabinergic aminoalkylindoles, including AM678=JWH018 found in 'Spice', examined using drug (Δ^9 -THC) discrimination for rats. *Behav. Pharmacol.* **2011**, 22, 498-507.
- [82] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Ergebnisse des schriftlichen Verfahrens des Sachverständigenausschusses für Betäubungsmittel nach § 1 Abs. 2 des Betäubungsmittelgesetzes, **11.07.2012**, <http://www.bfarm.de/DE/Bundesopiumstelle/BtM/sachverst/Protokolle/ErgebnSchriftlVerfahren.html>
- [83] N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. Identification of a Novel Cannabimimetic Phenylacetylindole, Cannabipiperidiethanone, as a Designer Drug in a Herbal Product and Its Affinity for Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors. *Chem. Pharm. Bull.* **2011**, 59, 1203-1205.
- [84] N. Uchiyama, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. Identification of two new-type synthetic cannabinoids, *N*-(1-adamantyl)-1-pentyl-1*H*-indole-3-carboxamide (APICA) and *N*-

- (1-adamantyl)-1-pentyl-1*H*-indazole-3-carboxamide (APINACA), and detection of five synthetic cannabinoids, AM-1220, AM-2233, AM-1241, CB-13 (CRA-13), and AM-1248, as designer drugs in illegal products. *Forensic Toxicol.* **2012**, 30, 114-125.
- [85] K. Takahashi, N. Uchiyama, T. Fukiwake, T. Hasegawa, M. Saijou, Y. Motoki, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. Identification and quantitation of JWH-213, a cannabimimetic indole, as a designer drug in a herbal product. *Forensic Toxicol.* **2012**, 10.1007/s11419-012-0161-6.
- [86] K.G. Shanks, T. Dahn, G. Behonick, A. Terrell. Analysis of First and Second Generation Legal Highs for Synthetic Cannabinoids and Synthetic Stimulants by Ultra-Performance Liquid Chromatography and Time of Flight Mass Spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* **2012**, 36, 360-371.
- [87] J. Nakajima, M. Takahashi, T. Seto, C. Kanai, J. Suzuki, M. Yoshida, N. Uemura, T. Hamano. Analysis of azepane isomers of AM-2233 and AM-1220, and detection of an inhibitor of fatty acid amide hydrolase [3'-(aminocarbonyl)(1,1'-biphenyl)-3-yl]-cyclohexylcarbamate (URB597) obtained as designer drugs in the Tokyo area. *Forensic Toxicol.* **2013**, 31, 76-85.
- [88] V. Shevyrin, V. Melkozerov, A. Nevero, O. Eltssov, Y. Morzherin, Y. Shafran. Identification and analytical properties of new synthetic cannabimimetics bearing 2,2,3,3-tetramethylcyclopropanecarbonyl moiety. *Forensic Sci. Int.* **2012**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.12.009>.
- [89] S. Dresen, N. Ferreirós, M. Pütz, F. Westphal, R. Zimmermann, V. Auwärter. Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds. *J. Mass. Spectrom.* **2010**, 45, 1186-1194.
- [90] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 35. Sitzung des Sachverständigenausschusses für Betäubungsmittel nach § 1 Abs. 2 des Betäubungsmittelgesetzes, **03.05.2010**, http://www.bfarm.de/DE/Bundesopiumstelle/BtM/sachverst/Protokolle/Ergebnisse_35.html
- [91] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 36. Sitzung des Sachverständigenausschusses für Betäubungsmittel nach § 1 Abs. 2 des Betäubungsmittelgesetzes, **06.12.2010**, http://www.bfarm.de/DE/Bundesopiumstelle/BtM/sachverst/Protokolle/Ergebnisse_36.html
- [92] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 37. Sitzung des Sachverständigenausschusses für Betäubungsmittel nach § 1 Abs. 2 des Betäubungsmittelgesetzes, **02.05.2011**, http://www.bfarm.de/DE/Bundesopiumstelle/BtM/sachverst/Protokolle/Ergebnisse_37.html
- [93] Bundesgesetzblatt **Jahrgang 2013** Teil Nr. 37, 27. Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften, 2274-2275, 16.07.2013.
- [94] Persönliche Mitteilung vom **01.07.2013**. V. Angerer, Institut für Rechtsmedizin, Freiburg.
- [95] F.T. Peters, M. Hartung, M. Herbold, G. Schmitt, T. Daldrup, F. Mußhoff. Anhang B zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen; Anforderungen an die Validierung von Analysenmethoden. *Toxichem. Krimtech.* **2009**, 76 (3), 185-208.
- [96] S. Dresen, S. Kneisel, W. Weinmann, R. Zimmermann, V. Auwärter. Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the

- quantitation of synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type and methanandamide in serum and its application to forensic samples. *J. Mass. Spectrom.* **2011**, *46*, 163-171.
- [97] B.K. Matuszewski, M.L. Constanzer, C.M. Chavez-Eng. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3019-3030.
- [98] N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUCHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophene derivative α -PVT and an opioid receptor agonist AH-7921 identified in illegal products. *Forensic Toxicol.* **2013**, *31*, 223-240.
- [99] P. Kavanagh, A. Grigoryev, S. Savchuk, I. Mikhura, A. Formanovsky. UR-144 in products sold via the Internet: Identification of related compounds and characterization of pyrolysis products. *Drug Test. Anal.* **2013**, *5*, 683-692.
- [100] H. Choi, S. Heo, E. Kim, B. Hwang, C. Lee, J. Lee. Identification of (1-pentylindol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)methanone and its 5-pentyl fluorinated analog in herbal incense seized for drug trafficking. *Forensic Toxicol.* **2013**, *31*, 86-92.
- [101] R. Kronstrand, M. Roman, M. Andersson, A. Eklund. Toxicological Findings of Synthetic Cannabinoids in Recreational Users. *J. Anal. Toxicol.* **2013**, 10.1093/jat/bkt068.
- [102] Bundesgesetzblatt **Jahrgang 2009** Teil I Nr. 80, 24. Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften, 3944, 23.09.2009.
- [103] M.A. Neukamm, T.E. Muerdter, C. Kabbe, H. Wehner, F. Wehner. Quantitative detection of the active "Spice" ingredient JWH-018 in serum by means of liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Blutalkohol* **2009**, *46*, 373-379.
- [104] I. Möller, A. Wintermeyer, K. Bender, M. Jübner, A. Thomas, O. Krug, W. Schänzer, M. Thevis. Screening for the synthetic cannabinoid JWH-018 and its major metabolites in human doping controls. *Drug Test. Anal.* **2010**, *3*, 609-620.
- [105] J. Teske, J.-P. Weller, A. Fieguth, T. Rothämel, Y. Schulz, H.D. Tröger. Sensitive and rapid quantification of the cannabinoid receptor agonist naphthalen-1-yl-(1-pentylindol-3-yl)methanone (JWH-018) in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2010**, *878*, 2659-2663.
- [106] C. Coulter, M. Garnier, C. Moore. Synthetic Cannabinoids in Oral Fluid. *J. Anal. Toxicol.* **2011**, *35*, 424-430.
- [107] M.A. ElSohly, W. Gul, K.M. ElSohly, T.P. Murphy, V.L.M. Madgula, S.I. Khan. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analysis of Urine Specimens for K2 (JWH-018) Metabolites. *J. Anal. Toxicol.* **2011**, *35*, 487-495.
- [108] S.L. Kacinko, A. Xu, J.W. Homan, M.M. McMullin, D.M. Warrington, B.K. Logan. Development and Validation of a Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Identification and Quantification of JWH-018, JWH-073, JWH-019, and JWH-250 in Human Whole Blood. *J. Anal. Toxicol.* **2011**, *35*, 386-393.
- [109] C.L. Moran, V.-H. Le, K.C. Chimalakonda, A.L. Smedley, F.D. Lackey, S.N. Owen, P.D. Kennedy, G.W. Endres, F.L. Ciske, J.B. Kramer, A.M. Kornilov, L.D. Bratton, P.J. Dobrowolski, W.D.

- Wessinger, W.E. Fantegrossi, P.L. Prather, L.P. James, A. Radominska-Pandya, J.H. Moran. Quantitative Measurement of JWH-018 and JWH-073 Metabolites Excreted in Human Urine. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4228-4236.
- [110] J. Ammann, J.M. McLaren, D. Gerostamoulos, J. Beyer. Detection and Quantification of New Designer Drugs in Human Blood: Part 1 – Synthetic Cannabinoids. *J. Anal. Toxicol.* **2012**, *36*, 372-380.
- [111] A.D. de Jager, J.V. Warner, M. Henman, W. Ferguson, A. Hall. LC–MS/MS method for the quantitation of metabolites of eight commonly-used synthetic cannabinoids in human urine – An Australian perspective. *J. Chromatogr. B* **2012**, *897*, 22-31.
- [112] R. Heltsley, M.K. Shelby, D.J. Crouch, D.L. Black, T.A. Robert, L. Marshall, C.L. Bender, A.Z. DePriest, M.A. Colello. Prevalence of Synthetic Cannabinoids in U.S. Athletes: Initial Findings. *J. Anal. Toxicol.* **2012**, *36*, 588-593.
- [113] M. Hutter, S. Kneisel, V. Auwärter, M.A. Neukamm. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2012**, *903*, 95-101.
- [114] S. Kneisel, V. Auwärter. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J. Mass. Spectrom.* **2012**, *47*, 825-835.
- [115] S. Kneisel, V. Auwärter, J. Kempf. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test. Anal.* **2012**, 10.1002/dta.1429.
- [116] J.L. Poklis, D. Amira, L.E. Wise, J.M. Wiebelhaus, B.J. Haggerty, A.H. Lichtman, A. Poklis. Determination of naphthalen-1-yl-(1-pentylindol-3-yl)methanone (JWH-018) in mouse blood and tissue after inhalation exposure to 'buzz' smoke by HPLC/MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* **2012**, *26*, 1393-1398.
- [117] J.L. Poklis, D. Amira, L.E. Wise, J.M. Wiebelhaus, B.J. Haggerty, A. Poklis. Detection and disposition of JWH-018 and JWH-073 in mice after exposure to "Magic Gold" smoke. *Forensic Sci. Int.* **2012**,
- [118] A. Salomone, E. Gerace, F. D'Urso, D. Di Corcia, M. Vincenti. Simultaneous analysis of several synthetic cannabinoids, THC, CBD and CBN, in hair by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Method validation and application to real samples. *J. Mass. Spectrom.* **2012**, *47*, 604-610.
- [119] K.G. Shanks, T. Dahn, A.R. Terrell. Detection of JWH-018 and JWH-073 by UPLC–MS-MS in Postmortem Whole Blood Casework. *J. Anal. Toxicol.* **2012**, *36*, 145-152.
- [120] S. Strano-Rossi, L. Anzillotti, E. Castrignanò, F.S. Romolo, M. Chiarotti. Ultra high performance liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, "spice" and stimulants in oral fluid. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1258*, 37-42.
- [121] M. Dziadosz, J.-P. Weller, M. Klintschar, J. Teske. Scheduled multiple reaction monitoring algorithm as a way to analyse new designer drugs combined with synthetic cannabinoids in

- human serum with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2013**, 929, 84-89.
- [122] S. Kneisel, M. Speck, B. Moosmann, T.M. Corneillie, N.G. Butlin, V. Auwärter. LC/ESI-MS/MS method for quantification of 28 synthetic cannabinoids in neat oral fluid and its application to preliminary studies on their detection windows. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 4691-4706.
- [123] A. Wohlfarth, K.B. Scheidweiler, X. Chen, H.-f. Liu, M.A. Huestis. Qualitative Confirmation of 9 Synthetic Cannabinoids and 20 Metabolites in Human Urine Using LC-MS/MS and Library Search. *Anal. Chem.* **2013**, 85, 3730-3738.
- [124] U.S. Zimmermann, P.R. Winkelmann, M. Pilhatsch, J.A. Nees, R. Spanagel, K. Schulz. Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of "spice gold". *Dtsch. Arztebl. Int.* **2009**, 106, 464-467.
- [125] C. Rodgman, E. Kinzie, E. Leimbach. Bad Mojo: use of the new marijuana substitute leads to more and more ED visits for acute psychosis. *Am. J. Emerg. Med.* **2011**, 29, 232.
- [126] A. Derungs, A. Schwaninger, G. Mansella, R. Bingisser, T. Kraemer, M. Liechti. Symptoms, toxicities, and analytical results for a patient after smoking herbs containing the novel synthetic cannabinoid MAM-2201. *Forensic Toxicol.* **2013**, 31, 164-171.
- [127] S. Every-Palmer. WARNING: LEGAL SYNTHETIC CANNABINOID-RECEPTOR AGONISTS SUCH AS JWH-018 MAY PRECIPITATE PSYCHOSIS IN VULNERABLE INDIVIDUALS. *Addiction* **2010**, 105, 1859-1860.
- [128] S. Peglow, J. Buchner, G. Briscoe. Synthetic Cannabinoid Induced Psychosis in a Previously Nonpsychotic Patient. *Am. J. Addiction* **2012**, 21, 287-288.
- [129] O.O. Oluwabusi, L. Lobach, U. Akhtar, B. Youngman, P.J. Ambrosini. Synthetic cannabinoid-induced psychosis: two adolescent cases. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* **2012**, 22, 393-395.
- [130] M.B. Forrester, K. Kleinschmidt, E. Schwarz, A. Young. Synthetic Cannabinoid Exposures Reported to Texas Poison Centers. *J. Addict. Dis.* **2011**, 30, 351-358.
- [131] J. Lapoint, L.P. James, C.L. Moran, L.S. Nelson, R.S. Hoffman, J.H. Moran. Severe toxicity following synthetic cannabinoid ingestion. *Clin. Toxicol.* **2011**, 49, 760-764.
- [132] J. Simmons, L. Cookman, C. Kang, C. Skinner. Three cases of "spice" exposure. *Clin. Toxicol.* **2011**, 49, 431-433.
- [133] J.R. Simmons, C.G. Skinner, J. Williams, C.S. Kang, M.D. Schwartz, B.K. Wills. Intoxication from smoking "spice". *Ann. Emerg. Med.* **2011**, 57, 187-188.
- [134] J. Cohen, S. Morrison, J. Greenberg, M. Saidinejad. Clinical Presentation of Intoxication Due to Synthetic Cannabinoids. *Pediatrics* **2012**, 129, e1064-e1067.
- [135] M. Forrester, K. Kleinschmidt, E. Schwarz, A. Young. Synthetic cannabinoid and marijuana exposures reported to poison centers. *Hum. Exp. Toxicol.* **2012**, 10.1177/0960327111421945.
- [136] C.R. Harris, A. Brown. Synthetic Cannabinoid Intoxication: A Case Series and Review. *J. Emerg. Med.* **2012**, 10.1016/j.jemermed.2012.07.061.

- [137] C.O. Hoyte, J. Jacob, A.A. Monte, M. Al-Jumaan, A.C. Bronstein, K.J. Heard. A Characterization of Synthetic Cannabinoid Exposures Reported to the National Poison Data System in 2010. *Ann. Emerg. Med.* **2012**, 60, 435-438.
- [138] H. Müller, H.B. Huttner, M. Kohrmann, J.E. Wielopolski, J. Kornhuber, W. Sperling. Panic attack after spice abuse in a patient with ADHD. *Pharmacopsychiatry* **2010**, 43, 152-153.
- [139] D. Vearrier, K.C. Osterhoudt. A Teenager With Agitation: Higher Than She Should Have Climbed. *Pediatr. Emerg. Care* **2010**, 26, 462-465.
- [140] D. Hurst, G. Loeffler, R. McLay. Psychosis associated with synthetic cannabinoid agonists: a case series. *Am. J. Psychiat.* **2011**, 168, 1119.
- [141] D. Papanti, F. Schifano, G. Botteon, F. Bertossi, J. Mannix, D. Vidoni, M. Impagnatiello, E. Pascolo-Fabrizi, T. Bonavigo. "Spicephrenia": a systematic overview of "Spice"-related psychopathological issues and a case report. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* **2013**, 28, 379-389.
- [142] A.C. Young, E. Schwarz, G. Medina, A. Obafemi, S.-Y. Feng, C. Kane, K. Kleinschmidt. Cardiotoxicity associated with the synthetic cannabinoid, K9, with laboratory confirmation. *Am. J. Emerg. Med.* **2012**, 30, 1320.e1325-1320.e1327.
- [143] H. Müller, W. Sperling, M. Köhrmann, H.B. Huttner, J. Kornhuber, J.-M. Maler. The synthetic cannabinoid Spice as a trigger for an acute exacerbation of cannabis induced recurrent psychotic episodes. *Schizophr. Res.* **2010**, 118, 309-310.
- [144] A.B. Schneir, J. Cullen, B.T. Ly. "Spice" Girls: Synthetic Cannabinoid Intoxication. *J. Emerg. Med.* **2010**, 40, 296-299.
- [145] S. Pant, A. Deshmukh, B. Dholaria, V. Kaur, S. Ramavaram, M. Ukor, G.A. Teran. Spicy seizure. *Am. J. Med. Sci.* **2012**, 344, 67-68.
- [146] B. Tofighi, J.D. Lee. Internet Highs—Seizures After Consumption of Synthetic Cannabinoids Purchased Online. *J. Addict. Med.* **2012**, 6, 240-241.
- [147] T.S. Heath, Z. Burroughs, A.J. Thompson, F.W. Tecklenburg. Acute Intoxication Caused by a Synthetic Cannabinoid in Two Adolescents. *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* **2012**, 17, 177-181.
- [148] A.d. Havenon, B. Chin, K.C. Thomas, P. Afra. The Secret "Spice": An Undetectable Toxic Cause of Seizure *The Neurohospitalist* **2011**, 1, 182-186.
- [149] D. McQuade, S. Hudson, P.I. Dargan, D.M. Wood. First European case of convulsions related to analytically confirmed use of the synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2012**, 10.1007/s00228-012-1379-2.
- [150] A.B. Schneir, T. Baumbacher. Convulsions Associated with the Use of a Synthetic Cannabinoid Product. *J. Med. Toxicol.* **2012**, 8, 62-64.
- [151] A. Mir, A. Obafemi, A. Young, C. Kane. Myocardial Infarction Associated With Use of the Synthetic Cannabinoid K2. *Pediatrics* **2011**, 128, e1622-e1627.
- [152] G.K. Bhanushali, G. Jain, H. Fatima, L.J. Leisch, D. Thornley-Brown. AKI Associated with Synthetic Cannabinoids: A Case Series. *Clin. J. Am. Soc. Nephro.* **2013**, 10.2215/cjn.05690612.

- [153] A. Kazory, R. Aiyer. Synthetic marijuana and acute kidney injury: an unforeseen association. *Clin. Kidney J.* **2013**, 6, 330-333.
- [154] H.H. Maurer, K. Pflieger, A.A. Weber, *Mass Spectral and GC Data of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants and Their Metabolites*, 4. Ausgabe, **2011**, Wiley-VCH, Weinheim.
- [155] S. Dresen, M. Gergov, L. Politi, C. Halter, W. Weinmann. ESI-MS/MS library of 1,253 compounds for application in forensic and clinical toxicology. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 395, 2521-2526.
- [156] H.E. Persson, G.K. Sjöberg, J.A. Haines, J.P. de Garbino. Poisoning Severity Score. Grading of Acute Poisoning. *Clin. Toxicol.* **1998**, 36, 205-213.
- [157] D.E. Smith. Acute and Chronic Toxicity of Marijuana. *J. Psychoactive Drugs* **1968**, 2, 37-48.
- [158] J.C. Nigrete. Psychological adverse effects of cannabis smoking: a tentative classification. *Can. Med. Assoc. J.* **1973**, 108, 195-202.
- [159] M.O. Maykut. Health consequences of acute and chronic marijuana use. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **1985**, 9, 209-238.
- [160] H. Thomas. Psychiatric symptoms in cannabis users. *Brit. J. Psychiat.* **1993**, 163, 141-149.
- [161] L. Hollister. Health aspects of cannabis: revisited. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **1998**, 1, 71.
- [162] A. Johns. Psychiatric effects of cannabis. *Brit. J. Psychiat.* **2001**, 178, 116-122.
- [163] C.H. Ashton. Pharmacology and effects of cannabis: a brief review. *Brit. J. Psychiat.* **2001**, 178, 101-106.
- [164] R. Jones. Cardiovascular system effects of marijuana. *J. Clin. Pharmacol.* **2002**, 42, 58S-63S.
- [165] H. Kalant. Adverse effects of cannabis on health: an update of the literature since 1996. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2004**, 28, 849-863.
- [166] S. Sidney. Cardiovascular consequences of marijuana use. *J. Clin. Pharmacol.* **2002**, 42, 64S-70S.
- [167] A. Macnab, E. Anderson, L. Susak. Ingestion of cannabis: a cause of coma in children. *Pediatr. Emerg. Care* **1989**, 5, 238-239.
- [168] F. Rubio, S. Quintero, A. Hernandez, S. Fernandez, L. Cozar, I.M. Lobato, S. Pantoja. Flumazenil for coma reversal in children after cannabis. *The Lancet* **1993**, 341, 1028-1029.
- [169] C.A. Boros, D.W. Parsons, G.D. Zoanetti, D. Ketteridge, D. Kennedy. Cannabis cookies: A cause of coma. *J. Paediatr. Child Health* **1996**, 32, 194-195.
- [170] N. López Segura, S. Herrero Pérez, E. Esteban Torné, V. Seidel Padilla, O. Garcá Algar, A. Mur Sierra. Intoxicación por ingesta accidental de cannabis. *An. Esp. Pediatr.* **2002**, 57, 76-77.
- [171] A. Appelboam, P.J. Oades. Coma due to cannabis toxicity in an infant. *Eur. J. Emerg. Med.* **2006**, 13, 177-179.
- [172] S.D. Carstairs, M.K. Fujinaka, G.E. Keeney, B.T. Ly. Prolonged Coma in a Child Due to Hashish Ingestion with Quantitation of THC Metabolites in Urine. *J. Emerg. Med.* **2011**, 41, e69-e71.

- [173] D. Weinberg, A. Lande, N. Hilton, D.L. Kerns. Intoxication from Accidental Marijuana Ingestion. *Pediatrics* **1983**, 71, 848-850.
- [174] J.L. Bonkowsky, D. Sarco, S.L. Pomeroy. Ataxia and shaking in a 2-year-old girl: acute marijuana intoxication presenting as seizure. *Pediatr. Emerg. Care* **2005**, 21, 527-528.
- [175] B.K. Atwood, J. Huffman, A. Straiker, K. Mackie. JWH018, a common constituent of 'Spice' herbal blends, is a potent and efficacious cannabinoid CB1 receptor agonist. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, 160, 585-593.
- [176] L.K. Brents, E.E. Reichard, S.M. Zimmerman, J.H. Moran, W.E. Fantegrossi, P.L. Prather. Phase I Hydroxylated Metabolites of the K2 Synthetic Cannabinoid JWH-018 Retain *In Vitro* and *In Vivo* Cannabinoid 1 Receptor Affinity and Activity. *PLoS ONE* **2011**, 6, e21917.
- [177] M. Rajasekaran, L.K. Brents, L.N. Franks, J.H. Moran, P.L. Prather. Human metabolites of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073 bind with high affinity and act as potent agonists at cannabinoid type-2 receptors. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2013**, 269, 100-108.
- [178] C.A. Paronis, S.P. Nikas, V.G. Shukla, A. Makriyannis. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol acts as a partial agonist/antagonist in mice. *Behav. Pharmacol.* **2012**, 23, 802-805.
- [179] B.K. Atwood, D. Lee, A. Straiker, T.S. Widlanski, K. Mackie. CP47,497-C8 and JWH073, commonly found in 'Spice' herbal blends, are potent and efficacious CB1 cannabinoid receptor agonists. *Eur. J. Pharmacol.* **2011**, 659, 139-145.
- [180] J.L. Wiley, J.A. Marusich, B.R. Martin, J.W. Huffman. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles and JWH-018 share in vivo cannabinoid profiles in mice. *Drug Alcohol Depend.* **2011**, 123, 148-153.
- [181] L.K. Brents, A. Gallus-Zawada, A. Radomska-Pandya, T. Vasiljevik, T.E. Prisinzano, W.E. Fantegrossi, J.H. Moran, P.L. Prather. Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. *Biochem. Pharmacol.* **2012**, 83, 952-961.
- [182] J.L. Wiley, J.A. Marusich, T.W. Lefever, M. Grabenauer, K.N. Moore, B.F. Thomas. Cannabinoids in disguise: Δ^9 -Tetrahydrocannabinol-like effects of tetramethylcyclopropyl ketone indoles. *Neuropharmacology* **2013**, 75, 145-154.
- [183] B.R. Martin, D.R. Compton, B.F. Thomas, W.R. Prescott, P.J. Little, R.K. Razdan, M.R. Johnson, L.S. Melvin, R. Mechoulam, W. Susan J. Behavioral, biochemical, and molecular modeling evaluations of cannabinoid analogs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1991**, 40, 471-478.
- [184] D.R. Compton, L.H. Gold, S.J. Ward, R.L. Balster, B.R. Martin. Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, 263, 1118-1126.
- [185] J.W. Huffman, L.W. Padgett. Recent developments in the medicinal chemistry of cannabimimetic indoles, pyrroles and indenenes. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 1395-1411.
- [186] J. Dhawan, H. Deng, S.J. Gatley, A. Makriyannis, T. Akinfeleye, M. Bruneus, A.A. Dimaio, A.N. Gifford. Evaluation of the in vivo receptor occupancy for the behavioral effects of cannabinoids using a radiolabeled cannabinoid receptor agonist, R-[¹²⁵/¹³¹I]AM2233. *Synapse* **2006**, 60, 93-101.

- [187] N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, N. Matsumoto, Z.-L. Huang, Y. Goda, Y. Urade. Effects of synthetic cannabinoids on electroencephalogram power spectra in rats. *Forensic Sci. Int.* **2012**, *215*, 179-183.
- [188] J.L. Wiley, B.R. Martin. Cannabinoid pharmacology: implications for additional cannabinoid receptor subtypes. *Chem. Phys. Lipids* **2002**, *121*, 57-63.
- [189] A. Köfalvi, E.S. Vizi, C. Ledent, B. Sperlágh. Cannabinoids inhibit the release of [3H]glutamate from rodent hippocampal synaptosomes via a novel CB1 receptor-independent action. *Eur. J. Neurosci.* **2003**, *18*, 1973-1978.
- [190] B.K. Logan, L.E. Reinhold, A. Xu, F.X. Diamond. Identification of Synthetic Cannabinoids in Herbal Incense Blends in the United States. *J. Forensic Sci.* **2012**, *57*, 1168-1180.
- [191] D. Zuba, B. Byrska. Analysis of the prevalence and coexistence of synthetic cannabinoids in "herbal high" products in Poland. *Forensic Toxicol.* **2013**, *31*, 21-30.
- [192] D. Zuba, B. Byrska, M. Maciow. Comparison of "herbal highs" composition. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *400*, 119-126.
- [193] F. Gurdal, M. Asirdizer, R.G. Aker, S. Korkut, Y. Gocer, E.E. Kucukbrahimoglu, C.H. Ince. Review of detection frequency and type of synthetic cannabinoids in herbal compounds analyzed by Istanbul Narcotic Department of the Council of Forensic Medicine, Turkey. *J. Forensic Legal Med.* **2013**, *20*, 667-672.
- [194] N. Langer, R. Lindigkeit, H.-M. Schiebel, L. Ernst, T. Beuerle. Identification and quantification of synthetic cannabinoids in 'spice-like' herbal mixtures: A snapshot of the German situation in the autumn of 2012. *Drug Test. Anal.* **2013**, 10.1002/dta.1499.
- [195] E.L. Sevigny. Is today's marijuana more potent simply because it's fresher? *Drug Test. Anal.* **2013**, *5*, 62-67.
- [196] F. Cascini, C. Aiello, G. Di Tanna. Increasing delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ -9-THC) content in herbal cannabis over time: systematic review and meta-analysis. *Curr. Drug Abuse Rev.* **2012**, *5*, 32.
- [197] Z. Mehmedic, S. Chandra, D. Slade, H. Denham, S. Foster, A.S. Patel, S.A. Ross, I.A. Khan, M.A. ElSohly. Potency Trends of Δ 9-THC and Other Cannabinoids in Confiscated Cannabis Preparations from 1993 to 2008. *J. Forensic Sci.* **2010**, *55*, 1209-1217.
- [198] M.A. Huestis. Human Cannabinoid Pharmacokinetics. *Chem. Biodivers.* **2007**, *4*, 1770-1804.
- [199] Q. Zhang, P. Ma, M. Iszard, R.B. Cole, W. Wang, G. Wang. In Vitro Metabolism of R(+)-[2,3-Dihydro-5-methyl-3-[(morpholinyl)methyl]pyrrolo [1,2,3-de]1,4-benzoxazinyl]-(1-naphthalenyl) methanone mesylate, a Cannabinoid Receptor Agonist. *Drug Metab. Dispos.* **2002**, *30*, 1077-1086.
- [200] Q. Zhang, P. Ma, R. Cole, G. Wang. Identification of in vitro metabolites of JWH-015, an aminoalkylindole agonist for the peripheral cannabinoid receptor (CB2) by HPLC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 1345-1355.
- [201] A. Wintermeyer, I. Möller, M. Thevis, M. Jübner, J. Beike, M. Rothschild, K. Bender. In vitro phase I metabolism of the synthetic cannabimimetic JWH-018. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398*, 2141-2153.

- [202] S. Beuck, I. Möller, A. Thomas, A. Klose, N. Schlörer, W. Schänzer, M. Thevis. Structure characterisation of urinary metabolites of the cannabimimetic JWH-018 using chemically synthesised reference material for the support of LC-MS/MS-based drug testing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, 401, 493-505.
- [203] T. Sobolevsky, I. Prasolov, G. Rodchenkov. Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine. *Forensic Sci. Int.* **2010**, 200, 141-147.
- [204] T. Sobolevsky, I. Prasolov, G. Rodchenkov. Application of mass spectrometry to the structural identification of the metabolites of the synthetic cannabinoid JWH-018 and the determination of them in human urine. *J. Anal. Chem.* **2011**, 66, 1314-1323.
- [205] A. Grigoryev, S. Savchuk, A. Melnik, N.j. Moskaleva, J. Dzhurko, M. Ershov, A. Nosyrev, A. Vedenin, B. Izotov, I. Zabirowa, V. Rozhanets. Chromatography–mass spectrometry studies on the metabolism of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073, psychoactive components of smoking mixtures. *J. Chromatogr. B* **2011**, 879, 1126-1136.
- [206] A. Grigoryev, A. Melnik, S. Savchuk, A. Simonov, V. Rozhanets. Gas and liquid chromatography–mass spectrometry studies on the metabolism of the synthetic phenylacetylindole cannabimimetic JWH-250, the psychoactive component of smoking mixtures. *J. Chromatogr. B* **2011**, 879, 2519-2526.
- [207] K.C. Chimalakonda, K.A. Seely, S.M. Bratton, L.K. Brents, C.L. Moran, G.W. Endres, L.P. James, P.F. Hollenberg, P.L. Prather, A. Radominska-Pandya, J.H. Moran. Cytochrome P450-mediated Oxidative Metabolism of Abused Synthetic Cannabinoids Found in "K2/Spice": Identification of Novel Cannabinoid Receptor Ligands. *Drug Metab. Dispos.* **2012**, 10.1124/dmd.112.047530.
- [208] M. Hutter, S. Broecker, S. Kneisel, V. Auwärter. Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in 'herbal mixtures' using LC-MS/MS techniques. *J. Mass. Spectrom.* **2012**, 47, 54-65.
- [209] A. Grigoryev, P. Kavanagh, A. Melnik. The detection of the urinary metabolites of 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-(2-iodophenyl)methanone (AM-694), a high affinity cannabimimetic, by gas chromatography – mass spectrometry. *Drug Test. Anal.* **2012**, 10.1002/dta.1336.
- [210] P. Kavanagh, A. Grigoryev, A. Melnik, A. Simonov. The Identification of the Urinary Metabolites of 3-(4-Methoxybenzoyl)-1-Pentylindole (RCS-4), a Novel Cannabimimetic, by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* **2012**, 36, 303-311.
- [211] D.P. Lovett, E.G. Yanes, T.W. Herbelin, T.A. Knoerzer, J.A. Levisky. Structure elucidation and identification of a common metabolite for naphthoylindole-based synthetic cannabinoids using LC-TOF and comparison to a synthetic reference standard. *Forensic Sci. Int.* **2012**, 226, 81-87.
- [212] N. De Brabanter, S. Esposito, L. Geldof, L. Lootens, P. Meuleman, G. Leroux-Roels, K. Deventer, P. Van Eenoo. In vitro and in vivo metabolisms of 1-pentyl-3-(4-methyl-1-naphthoyl)indole (JWH-122). *Forensic Toxicol.* **2013**, 31, 212-222.
- [213] P. Kavanagh, A. Grigoryev, A. Melnik, S. Savchuk, A. Simonov, V. Rozhanets. Detection and tentative identification of urinary phase I metabolites of phenylacetylindole cannabimimetics JWH-203 and JWH-251, by GC-MS and LC-MS/MS. *J. Chromatogr. B* **2013**, 934, 102-108.

- [214] N. De Brabanter, S. Esposito, E. Tudela, L. Lootens, P. Meuleman, G. Leroux-Roels, K. Deventer, P.V. Eenoo. In vivo and in vitro metabolism of the synthetic cannabinoid JWH-200. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2013**, 27, 2115-2126.
- [215] T. Sobolevsky, I. Prasolov, G. Rodchenkov. Detection of urinary metabolites of AM-2201 and UR-144, two novel synthetic cannabinoids. *Drug Test. Anal.* **2012**, 4, 745-753.
- [216] M. Hutter, B. Moosmann, S. Kneisel, V. Auwärter. Characteristics of the designer drug and synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201 regarding its chemistry and metabolism. *J. Mass. Spectrom.* **2013**, 48, 885-894.
- [217] M. Jang, W. Yang, I. Shin, H. Choi, H. Chang, E. Kim. Determination of AM-2201 metabolites in urine and comparison with JWH-018 abuse. *Int. J. Legal Med.* **2013**, 10.1007/s00414-013-0884-x.
- [218] A. Grigoryev, P. Kavanagh, A. Melnik. The detection of the urinary metabolites of 3-[(adamantan-1-yl)carbonyl]-1-pentylindole (AB-001), a novel cannabimimetic, by gas chromatography-mass spectrometry. *Drug Test. Anal.* **2012**, 4, 519-524.
- [219] A.S. Gandhi, M. Zhu, S. Pang, A. Wohlfarth, K.B. Scheidweiler, H.-f. Liu, M.A. Huestis. First Characterization of AKB-48 Metabolism, a Novel Synthetic Cannabinoid, Using Human Hepatocytes and High-Resolution Mass Spectrometry. *The AAPS Journal* **2013**, 15, 1091-1098.
- [220] C.E. Bass, B.R. Martin. Time course for the induction and maintenance of tolerance to Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice. *Drug Alcohol Depend.* **2000**, 60, 113-119.
- [221] L.R. McMahon. Chronic Δ^9 -tetrahydrocannabinol treatment in rhesus monkeys: differential tolerance and cross-tolerance among cannabinoids. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, 162, 1060-1073.
- [222] L. Hruby, B.C. Ginsburg, L.R. McMahon. Apparent Inverse Relationship between Cannabinoid Agonist Efficacy and Tolerance/Cross-Tolerance Produced by Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Treatment in Rhesus Monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, 342, 843-849.
- [223] J. Hirvonen, R.S. Goodwin, C.T. Li, G.E. Terry, S.S. Zoghbi, C. Morse, V.W. Pike, N.D. Volkow, M.A. Huestis, R.B. Innis. Reversible and regionally selective downregulation of brain cannabinoid CB1 receptors in chronic daily cannabis smokers. *Mol. Psychiatry* **2012**, 17, 642-649.
- [224] D.A. Gorelick, R.S. Goodwin, E. Schwilke, D.M. Schwoppe, W.D. Darwin, D.L. Kelly, R.P. McMahon, F. Liu, C. Ortemann-Renon, D. Bonnet, M.A. Huestis. Tolerance to Effects of High-Dose Oral Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Plasma Cannabinoid Concentrations in Male Daily Cannabis Smokers. *J. Anal. Toxicol.* **2013**, 37, 11-16.
- [225] C. Hsieh, S. Brown, C. Derleth, K. Mackie. Internalization and Recycling of the CB1 Cannabinoid Receptor. *J. Neurochem.* **1999**, 73, 493-501.
- [226] T.L. Daigle, C.S. Kearn, K. Mackie. Rapid CB1 cannabinoid receptor desensitization defines the time course of ERK1/2 MAP kinase signaling. *Neuropharmacology* **2008**, 54, 36-44.
- [227] E.J. Downer, A. Gowran, Á.C. Murphy, V.A. Campbell. The tumour suppressor protein, p53, is involved in the activation of the apoptotic cascade by Δ^9 -tetrahydrocannabinol in cultured cortical neurons. *Eur. J. Pharmacol.* **2007**, 564, 57-65.

- [228] T. Powles, R.t. Poole, J. Shamash, T. Chaplin, D. Propper, S. Joel, T. Oliver, W.M. Liu. Cannabis-induced cytotoxicity in leukemic cell lines: the role of the cannabinoid receptors and the MAPK pathway. *Blood* **2005**, *105*, 1214-1221.
- [229] K. Tomiyama, M. Funada. Cytotoxicity of synthetic cannabinoids found in "Spice" products: The role of cannabinoid receptors and the caspase cascade in the NG 108-15 cell line. *Toxicol. Lett.* **2011**, *207*, 12-17.
- [230] L.A. Parker, E.M. Rock, C.L. Limebeer. Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *163*, 1411-1422.
- [231] P. Chepyala, K.W. Olden. Cyclic Vomiting and Compulsive Bathing With Chronic Cannabis Abuse. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2008**, *6*, 710-712.
- [232] S. Sontineni, S. Chaudhary, V. Sontineni, S. Lanspa. Cannabinoid hyperemesis syndrome: clinical diagnosis of an underrecognised manifestation of chronic cannabis abuse. *World J. Gastroenterol.* **2009**, *15*, 1264.
- [233] M. Soriano-Co, M. Batke, M. Cappell. The Cannabis Hyperemesis Syndrome Characterized by Persistent Nausea and Vomiting, Abdominal Pain, and Compulsive Bathing Associated with Chronic Marijuana Use: A Report of Eight Cases in the United States. *Dig. Dis. Sci.* **2010**, *55*, 3113-3119.
- [234] M.W. Donnino, M.N. Cocchi, J. Miller, J. Fisher. Cannabinoid Hyperemesis: A Case Series. *J. Emerg. Med.* **2011**, *40*, e63-e66.
- [235] B. Cox, A. Chhabra, M. Adler, J. Simmons, D. Randlett. Cannabinoid hyperemesis syndrome: case report of a paradoxical reaction with heavy marijuana use. *Case Rep. Med.* **2012**, 10.1155/2012/757696.
- [236] S.E. Nicolson, L. Denysenko, J.L. Mulcare, J.P. Vito, B. Chabon. Cannabinoid Hyperemesis Syndrome: A Case Series and Review of Previous Reports. *Psychosomatics* **2012**, *53*, 212-219.
- [237] D.A. Simonetto, A.S. Oxentenko, M.L. Herman, J.H. Szostek. Cannabinoid Hyperemesis: A Case Series of 98 Patients. *Mayo Clin. Proc.* **2012**, *87*, 114-119.
- [238] K. Wild, H. Wilson. Cannabinoid hyperemesis. *Emerg. Med. J.* **2012**, *29*, 67-69.
- [239] R. Morris, M. Fisher. Cannabinoid hyperemesis syndrome: a specific cause of cyclical vomiting. *Int. J. Adolesc. Med. Health* **2013**, 10.1515/ijamh-2012-0113.
- [240] J. Brust, S. Ng, A. Hauser, M. Susser. Marijuana use and the risk of new onset seizures. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* **1992**, *103*, 176.
- [241] D. Gross, J. Hamm, N. Ashworth, D. Quigley. Marijuana use and epilepsy Prevalence in patients of a tertiary care epilepsy center. *Neurology* **2004**, *62*, 2095-2097.
- [242] K. Mortati, B. Dworetzky, O. Devinsky. Marijuana: an effective antiepileptic treatment in partial epilepsy? A case report and review of the literature. *Rev. Neurol. Dis.* **2007**, *4*, 103.
- [243] M. Hegde, C. Santos-Sanchez, C.P. Hess, A.A. Kabir, P.A. Garcia. Seizure exacerbation in two patients with focal epilepsy following marijuana cessation. *Epilepsy Behav.* **2012**, *25*, 563-566.

- [244] M. Bhaskaran, B. Smith. Cannabinoid-mediated inhibition of recurrent excitatory circuitry in the dentate gyrus in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *PLoS ONE* **2010**, 5, e10683.
- [245] L. Shubina, V. Kichigina. Protective Effects of the CB1 Receptor Agonist WIN 55.212-2 during Development of Seizure Activity in the Brain in Models of Temporal Epilepsy in Vivo. *Neurosci. Behav. Physiol.* **2012**, 42, 582-587.
- [246] N.A. Jones, S.E. Glyn, S. Akiyama, T.D. Hill, A.J. Hill, S.E. Weston, M.D. Burnett, Y. Yamasaki, G.J. Stephens, B.J. Whalley. Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. *Seizure* **2012**, 21, 344-352.
- [247] D. Gloss, B. Vickrey. Cannabinoids for epilepsy (Review). *The Cochrane Library* **2012**, Issue 6, 1-20.
- [248] W.D. Hall. Cannabis use and psychosis. *Drug Alcohol Rev.* **1998**, 17, 433-444.
- [249] D.M. Fergusson, R. Poulton, P.F. Smith, J.M. Boden. Cannabis and psychosis. *Br. Med. J.* **2006**, 332, 172-175.
- [250] R.M. Murray, P.D. Morrison, C. Henquet, M.D. Forti. Cannabis, the mind and society: the hash realities. *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, 8, 885-895.
- [251] K.R. Müller-Vahl, H.M. Emrich. Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. *Expert Rev. Neurother.* **2008**, 8, 1037-1048.
- [252] J.M. Pierre. Cannabis, synthetic cannabinoids, and psychosis risk: What the evidence says. *Curr. Psychiatry* **2011**, 10, 49-58.
- [253] D. Durand, L.L. Delgado, D.M. de la Parra-Pellot, D. Nichols-Vinueza. Psychosis and Severe Rhabdomyolysis Associated with Synthetic Cannabinoid Use. *Clini. Schizophr. Relat. Psychoses* **2013**, 10.3371/csrp.dude.031513.
- [254] M.M. Bergamaschi, R.H.C. Queiroz, M.H.N. Chagas, D.C.G. de Oliveira, B.S. De Martinis, F. Kapczinski, J. Quevedo, R. Roesler, N. Schroder, A.E. Nardi, R. Martin-Santos, J.E.C. Hallak, A.W. Zuardi, J.A.S. Crippa. Cannabidiol Reduces the Anxiety Induced by Simulated Public Speaking in Treatment-Naïve Social Phobia Patients. *Neuropsychopharmacol.* **2011**, 36, 1219-1226.
- [255] J.A.S. Crippa, G.N. Derenusson, T.B. Ferrari, L. Wichert-Ana, F.L. Duran, R. Martin-Santos, M.V. Simões, S. Bhattacharyya, P. Fusar-Poli, Z. Atakan, A.S. Filho, M.C. Freitas-Ferrari, P.K. McGuire, A.W. Zuardi, G.F. Busatto, J.E.C. Hallak. Neural basis of anxiolytic effects of cannabidiol (CBD) in generalized social anxiety disorder: a preliminary report. *J. Psychopharm.* **2011**, 25, 121-130.
- [256] Centers for Disease Control and Prevention. Acute Kidney Injury Associated with Synthetic Cannabinoid Use — Multiple States, 2012, *Morbidity and Mortality Weekly Report* **2013**, 62, 93.
- [257] S. Alhadi, A. Tiwari, R. Vohra, R. Gerona, J. Acharya, K. Bilello. High Times, Low Sats: Diffuse Pulmonary Infiltrates Associated with Chronic Synthetic Cannabinoid Use. *J. Med. Toxicol.* **2013**, 9, 199-206.
- [258] N.N. Singh, Y. Pan, S. Muengtaweepsonsa, T.J. Geller, S. Cruz-Flores. Cannabis-Related Stroke: Case Series and Review of Literature. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* **2012**, 21, 555-560.

- [259] V. Wolff, J.-P. Armspach, V. Lauer, O. Rouyer, M. Bataillard, C. Marescaux, B. Geny. Cannabis-related Stroke: Myth or Reality? *Stroke* **2013**, *44*, 558-563.
- [260] T. Saito, A. Namera, N. Miura, S. Ohta, S. Miyazaki, M. Osawa, S. Inokuchi. A fatal case of MAM-2201 poisoning. *Forensic Toxicol.* **2013**, *31*, 333-337.
- [261] Straßenverkehrsgesetz (StVG), III. Straf- und Bußgeldvorschriften, §24a 0,5 Promille-Grenze, Bundesrepublik Deutschland.
- [262] Grenzwertkommission. Beschluss zu §24a (2) StVG vom 20.11.2002. *Toxichem. Krimtech.* **2002**, *69*, 127.
- [263] Strafgesetzbuch (StGB), Besonderer Teil, 28. Abschnitt - Gemeingefährliche Straftaten, §316 *Trunkenheit im Verkehr*, Bundesrepublik Deutschland.
- [264] Strafgesetzbuch (StGB), Besonderer Teil, 28. Abschnitt - Gemeingefährliche Straftaten, §315c *Gefährdung des Straßenverkehrs*, Bundesrepublik Deutschland.
- [265] S. Agurell, I.M. Nilsson, A. Ohlsson, F. Sandberg. On the metabolism of tritium-labelled Δ^1 -tetrahydrocannabinol in the rabbit. *Biochem. Pharmacol.* **1970**, *19*, 1333-1339.
- [266] D.S. Kreuz, J. Axelrod. Delta-9-Tetrahydrocannabinol: Localization in Body Fat. *Science* **1973**, *179*, 391-393.
- [267] E. Johansson, S. Agurell, L.E. Hollister, M.M. Halldin. Prolonged apparent half-life of Δ^1 -tetrahydrocannabinol in plasma of chronic marijuana users. *J. Pharm. Pharmacol.* **1988**, *40*, 374-375.
- [268] E. Johansson, M.M. Halldin, S. Agurell, L.E. Hollister, H.K. Gillespie. Terminal elimination plasma half-life of Δ^1 -tetrahydrocannabinol (Δ^1 -THC) in heavy users of marijuana. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1989**, *37*, 273-277.
- [269] S.W. Toennes, J.G. Ramaekers, E.L. Theunissen, M.R. Moeller, G.F. Kauert. Comparison of Cannabinoid Pharmacokinetic Properties in Occasional and Heavy Users Smoking a Marijuana or Placebo Joint. *J. Anal. Toxicol.* **2008**, *32*, 470-477.
- [270] E.L. Karschner, E.W. Schilke, R.H. Lowe, W.D. Darwin, H.G. Pope, R. Herning, J.L. Cadet, M.A. Huestis. Do Δ^9 -tetrahydrocannabinol concentrations indicate recent use in chronic cannabis users? *Addiction* **2009**, *104*, 2041-2048.
- [271] Strafgesetzbuch (StGB), Allgemeiner Teil, 3. Abschnitt - Freiheitsentziehende Maßregeln, §63 *Unterbringung in einem psychiatrischen Krankenhaus*, Bundesrepublik Deutschland.
- [272] Strafgesetzbuch (StGB), Allgemeiner Teil, 3. Abschnitt - Freiheitsentziehende Maßregeln, §64 *Unterbringung in einer Entziehungsanstalt*, Bundesrepublik Deutschland.
- [273] E.W. Schilke, D.M. Schwoppe, E.L. Karschner, R.H. Lowe, W.D. Darwin, D.L. Kelly, R.S. Goodwin, D.A. Gorelick, M.A. Huestis. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC), 11-Hydroxy-THC, and 11-Nor-9-carboxy-THC Plasma Pharmacokinetics during and after Continuous High-Dose Oral THC. *Clin. Chem.* **2009**, *55*, 2180-2189.
- [274] A.G. Verstraete. Detection Times of Drugs of Abuse in Blood, Urine, and Oral Fluid. *Ther. Drug Monit.* **2004**, *26*, 200-205.

- [275] M.J. Jin, J. Lee, M.K. In, H.H. Yoo. Characterization of In Vitro Metabolites of CP 47,497, a Synthetic Cannabinoid, in Human Liver Microsomes by LC-MS/MS. *J. Forensic Sci.* **2012**, *58*, 195-199.
- [276] J.K.M. Aps, L.C. Martens. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci. Int.* **2005**, *150*, 119-131.
- [277] D.J. Crouch. Oral fluid collection: The neglected variable in oral fluid testing. *Forensic Sci. Int.* **2005**, *150*, 165-173.
- [278] A.G. Verstraete. Oral fluid testing for driving under the influence of drugs: history, recent progress and remaining challenges. *Forensic Sci. Int.* **2005**, *150*, 143-150.
- [279] O.H. Drummer. Introduction and Review of Collection Techniques and Applications of Drug Testing of Oral Fluid. *Ther. Drug Monit.* **2008**, *30*, 203-206.
- [280] W.M. Bosker, M.A. Huestis. Oral Fluid Testing for Drugs of Abuse. *Clin. Chem.* **2009**, *55*, 1910-1931.
- [281] O. Quintela, D.J. Crouch, D.M. Andrenyak. Recovery of Drugs of Abuse from the Immunalysis Quantisal™ Oral Fluid Collection Device. *J. Anal. Toxicol.* **2006**, *30*, 614-616.
- [282] G.F. Kauert, S. Iwersen-Bergmann, S.W. Toennes. Assay of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) in Oral Fluid—Evaluation of the OraSure Oral Specimen Collection Device *J. Anal. Toxicol.* **2006**, *30*, 274-277.
- [283] S. Dickson, A. Park, S. Nolan, S. Kenworthy, C. Nicholson, J. Midgley, R. Pinfold, S. Hampton. The recovery of illicit drugs from oral fluid sampling devices. *Forensic Sci. Int.* **2007**, *165*, 78-84.
- [284] K. Langel, C. Engblom, A. Pehrsson, T. Gunnar, K. Ariniemi, P. Lillsunde. Drug Testing in Oral Fluid—Evaluation of Sample Collection Devices. *J. Anal. Toxicol.* **2008**, *32*, 393-401.
- [285] J. Kempf, T. Wuske, R. Schubert, W. Weinmann. Pre-analytical stability of selected benzodiazepines on a polymeric oral fluid sampling device. *Forensic Sci. Int.* **2009**, *186*, 81-85.
- [286] A. Molnar, J. Lewis, S. Fu. Recovery of spiked Δ^9 -tetrahydrocannabinol in oral fluid from polypropylene containers. *Forensic Sci. Int.* **2012**, *227*, 69-73.
- [287] M. Speck, S. Kneisel, N.G. Butlin, V. Auwärter. Stability of 26 synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type, JWH-307 and methanandamide in oral fluid under different storage conditions (Poster), *50. Jahrestagung der TIAFT (The International Association of Forensic Toxicologists)*, **2012**, Hamamatsu, Japan.
- [288] R.S. Niedbala, K.W. Kardos, D.F. Fritch, S. Kardos, T. Fries, J. Waga, J. Robb, E.J. Cone. Detection of Marijuana Use by Oral Fluid and Urine Analysis Following Single-Dose Administration of Smoked and Oral Marijuana. *J. Anal. Toxicol.* **2001**, *25*, 289-303.
- [289] M.A. Huestis, E.J. Cone. Relationship of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Concentrations in Oral Fluid and Plasma after Controlled Administration of Smoked Cannabis. *J. Anal. Toxicol.* **2004**, *28*, 394-399.
- [290] A.S. Christophersen. Tetrahydrocannabinol Stability in Whole Blood: Plastic Versus Glass Containers. *J. Anal. Toxicol.* **1986**, *10*, 129-131.

- [291] J.A. Blanc, V.A. Manneh, R. Ernst, D.E. Berger, S.A. de Keczer, C. Chase, J.M. Centofanti, A.J. DeLizza. Adsorption losses from urine-based cannabinoid calibrators during routine use. *Clin. Chem.* **1993**, 39, 1705-1712.
- [292] E.W. Schwilke, E.L. Karschner, R.H. Lowe, A.M. Gordon, J.L. Cadet, R.I. Herning, M.A. Huestis. Intra- and Intersubject Whole Blood/Plasma Cannabinoid Ratios Determined by 2-Dimensional, Electron Impact GC-MS with Cryofocusing. *Clin. Chem.* **2009**, 55, 1188-1195.
- [293] H. Choi, S. Baeck, E. Kim, S. Lee, M. Jang, J. Lee, H. Choi, H. Chung. Analysis of cannabis in oral fluid specimens by GC-MS with automatic SPE. *Sci. Justice* **2009**, 49, 242-246.
- [294] S. Kneisel, P. Bisel, V. Brecht, S. Broecker, M. Müller, V. Auwärter. Identification of the cannabimimetic AM-1220 and its azepane isomer (*N*-methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indole in a research chemical and several herbal mixtures. *Forensic Toxicol.* **2012**, 30, 126-134.
- [295] P.J. Little, D.R. Compton, R. Mechoulam, B.R. Martin. Stereochemical effects of 11-OH- Δ^8 -THC-dimethylheptyl in mice and dogs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1989**, 32, 661-666.
- [296] J.L. Wiley, R.K. Razdan, B.R. Martin. Evaluation of the role of the arachidonic acid cascade in anandamide's in vivo effects in mice. *Life Sci.* **2006**, 80, 24-35.
- [297] T.U.C. Järbe, R.S. Gifford. "Herbal incense": Designer drug blends as cannabimimetics and their assessment by drug discrimination and other in vivo bioassays. *Life Sci.* **2013**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2013.07.011>.
- [298] C. Yung-Chi, W.H. Prusoff. Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22, 3099-3108.
- [299] G. Griffin, P.J. Atkinson, V.M. Showalter, B.R. Martin, M.E. Abood. Evaluation of cannabinoid receptor agonists and antagonists using the guanosine-5'-O-(3-[35S]thio)-triphosphate binding assay in rat cerebellar membranes. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1998**, 285, 553-560.
- [300] C.C. Felder, K.E. Joyce, E.M. Briley, J. Mansouri, K. Mackie, O. Blond, Y. Lai, A.L. Ma, R.L. Mitchell. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol. Pharmacol.* **1995**, 48, 443-450.
- [301] K.G. Shanks, G.S. Behonick, T. Dahn, A. Terrell. Identification of Novel Third-Generation Synthetic Cannabinoids in Products by Ultra-Performance Liquid Chromatography and Time-of-Flight Mass Spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* **2013**, 10.1093/jat/bkt062.
- [302] N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. Identification of two new-type designer drugs, piperazine derivative MT-45 (I-C6) and synthetic peptide Noopept (GVS-111), with synthetic cannabinoid A-834735, cathinone derivative 4-methoxy- α -PVP, and phenethylamine derivative 4-methylbuphedrine from illegal products. *Forensic Toxicol.* **2013**, 10.1007/s11419-013-0194-5.
- [303] N. Uemura, H. Fukaya, C. Kanai, M. Yoshida, J.i. Nakajima, M. Takahashi, J. Suzuki, T. Moriyasu, D. Nakae. Identification of a synthetic cannabinoid A-836339 as a novel compound found in a product. *Forensic Toxicol.* **2013**, 10.1007/s11419-013-0201-x.
- [304] N. Uchiyama, S. Matsuda, D. Wakana, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda. New cannabimimetic indazole derivatives, *N*-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-pentyl-1*H*-indazole-3-

- carboxamide (AB-PINACA) and N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(4-fluorobenzyl)-1H-indazole-3-carboxamide (AB-FUBINACA) identified as designer drugs in illegal products. *Forensic Toxicol.* **2012**, *31*, 93-100.
- [305] R. Denooz, J.-C. Vanheugen, M. Frederich, P. de Tullio, C. Charlier. Identification and Structural Elucidation of Four Cannabimimetic Compounds (RCS-4, AM-2201, JWH-203 and JWH-210) in Seized Products. *J. Anal. Toxicol.* **2013**, 10.1093/jat/bks095.
- [306] K. Simolka, R. Lindigkeit, H.-M. Schiebel, U. Papke, L. Ernst, T. Beuerle. Analysis of synthetic cannabinoids in "spice-like" herbal highs: snapshot of the German market in summer 2011. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *404*, 157-171.
- [307] J. Nakajima, M. Takahashi, T. Seto, M. Yoshida, C. Kanai, J. Suzuki, T. Hamano. Identification and quantitation of two new naphthoylindole drugs-of-abuse, (1-(5-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone (AM-2202) and (1-(4-pentenyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone, with other synthetic cannabinoids in unregulated "herbal" products circulated in the Tokyo area. *Forensic Toxicol.* **2012**, *30*, 33-44.
- [308] V. Shevyrin, V. Melkozerov, A. Nevero, O. Eltsov, Y. Shafran. Analytical characterization of some synthetic cannabinoids, derivatives of indole-3-carboxylic acid. *Forensic Sci. Int.* **2013**, *232*, 1-10.
- [309] H. Koskela, U. Hakala, L. Loiske, P. Vanninen, I. Szilvay. Separation and structural characterization of a synthetic cannabinoid found in a herbal product using off-line LC-DAD-NMR. *Anal. Methods* **2011**, *3*, 2307-2312.
- [310] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). Thematic Paper, *Understanding the 'Spice' phenomenon* **2009**, 1-25.
- [311] E. Valoti, E. Casagni, L. Dell'Acqua, M. Pallavicini, G. Roda, C. Rusconi, V. Straniero, V. Gambaro. Identification of 1-butyl-3-(1-(4-methyl)naphthoyl)indole detected for the first time in "herbal high" products on the Italian market. *Forensic Sci. Int.* **2012**, *223*, e42-e46.
- [312] L. Ernst, K. Krüger, R. Lindigkeit, H.-M. Schiebel, T. Beuerle. Synthetic cannabinoids in "spice-like" herbal blends: First appearance of JWH-307 and recurrence of JWH-018 on the German market. *Forensic Sci. Int.* **2012**, *222*, 216-222.
- [313] J. Ammann, O.H. Drummer, D. Gerostamoulos, J. Beyer. Detection of synthetic cannabinoids in biological samples - A Review. *TIAFT Bull.* **2011**, *41 (3)*, 21-27.
- [314] S. Hudson, J. Ramsey. The emergence and analysis of synthetic cannabinoids. *Drug Test. Anal.* **2011**, *3*, 466-478.
- [315] Y. Park, C. Lee, H. Lee, J. Pyo, J. Jo, J. Lee, H. Choi, S. Kim, R. Hong, Y. Park, B. Hwang, S. Choe, J. Jung. Identification of a new synthetic cannabinoid in a herbal mixture: 1-butyl-3-(2-methoxybenzoyl)indole. *Forensic Toxicol.* **2013**, *31*, 187-196.
- [316] W.A. Devane, A. Breuer, T. Sheskin, T.U. Jarbe, M.S. Eisen, R. Mechoulam. A novel probe for the cannabinoid receptor. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2065-2069.
- [317] D. Lu, Z. Meng, G.A. Thakur, P. Fan, J. Steed, C.L. Tartal, D.P. Hurst, P.H. Reggio, J.R. Deschamps, D.A. Parrish, C. George, T.U.C. Jarbe, R.J. Lamb, A. Makriyannis. Adamantyl Cannabinoids: A Novel Class of Cannabinergic Ligands. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4576-4585.

- [318] G. Yan, D. Yin, A.D. Khanolkar, D.R. Compton, B.R. Martin, A. Makriyannis. Synthesis and Pharmacological Properties of 11-Hydroxy-3-(1',1'-dimethylheptyl)hexahydrocannabinol: A High Affinity Cannabinoid Agonist. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2619-2622.
- [319] J.M. Frost, M.J. Dart, K.R. Tietje, T.R. Garrison, G.K. Grayson, A.V. Daza, O.F. El-Kouhen, L.N. Miller, L. Li, B.B. Yao, G.C. Hsieh, M. Pai, C.Z. Zhu, P. Chandran, M.D. Meyer. Indol-3-yl-tetramethylcyclopropyl Ketones: Effects of Indole Ring Substitution on CB2 Cannabinoid Receptor Activity. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1904-1912.
- [320] B.B. Yao, G. Hsieh, A.V. Daza, Y. Fan, G.K. Grayson, T.R. Garrison, O. El Kouhen, B.A. Hooker, M. Pai, E.J. Wensink, A.K. Salyers, P. Chandran, C.Z. Zhu, C. Zhong, K. Ryther, M.E. Gallagher, C.-L. Chin, A.E. Tovcimak, V.P. Hradil, G.B. Fox, M.J. Dart, P. Honore, M.D. Meyer. Characterization of a Cannabinoid CB2 Receptor-Selective Agonist, A-836339 [2,2,3,3-Tetramethyl-cyclopropanecarboxylic Acid [3-(2-Methoxy-ethyl)-4,5-dimethyl-3H-thiazol-(2Z)-ylidene]-amide], Using in Vitro Pharmacological Assays, in Vivo Pain Models, and Pharmacological Magnetic Resonance Imaging. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *328*, 141-151.
- [321] C.L. Chin, A.E. Tovcimak, V.P. Hradil, T.R. Seifert, P.R. Hollingsworth, P. Chandran, C.Z. Zhu, D. Gauvin, M. Pai, J. Wetter, G.C. Hsieh, P. Honore, J.M. Frost, M.J. Dart, M.D. Meyer, B.B. Yao, B.F. Cox, G.B. Fox. Differential effects of cannabinoid receptor agonists on regional brain activity using pharmacological MRI. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *153*, 367-379.
- [322] I.P. Buchler, M.J. Hayes, S.G. Hegde, S.L. Hockerman, D.E. Jones, S.W. Kortum, J.G. Rico, R.E. Tenbrink, K.K. WU. Indazole Derivatives, *United States Patent Application US 2011/0028447 A1*, **2011**.
- [323] B. Bingham, P.G. Jones, A.J. Uveges, S. Kotnis, P. Lu, V.A. Smith, S.C. Sun, L. Resnick, M. Chlenov, Y. He, B.W. Strassle, T.A. Cummons, M.J. Piesla, J.E. Harrison, G.T. Whiteside, J.D. Kennedy. Species-specific in vitro pharmacological effects of the cannabinoid receptor 2 (CB2) selective ligand AM1241 and its resolved enantiomers. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *151*, 1061-1070.
- [324] C.-P. Shen, J.C. Xiao, H. Armstrong, W. Hagmann, T.M. Fong. F200A substitution in the third transmembrane helix of human cannabinoid CB1 receptor converts AM2233 from receptor agonist to inverse agonist. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, *531*, 41-46.
- [325] V.J. Koller, G.J. Zlabinger, V. Auwärter, S. Fuchs, S. Knasmueller. Toxicological profiles of selected synthetic cannabinoids showing high binding affinities to the cannabinoid receptor subtype CB1. *Arch. Toxicol.* **2013**, *87*, 1287-1297.
- [326] E.K. Dziadulewicz, S.J. Bevan, C.T. Brain, P.R. Coote, A.J. Culshaw, A.J. Davis, L.J. Edwards, A.J. Fisher, A.J. Fox, C. Gentry, A. Groarke, T.W. Hart, W. Huber, I.F. James, A. Kesingland, L. La Vecchia, Y. Loong, I. Lyothier, K. McNair, C. O'Farrell, M. Peacock, R. Portmann, U. Schopfer, M. Yaqoob, J. Zadrobilek. Naphthalen-1-yl-(4-pentyloxynaphthalen-1-yl)methanone: A Potent, Orally Bioavailable Human CB1/CB2 Dual Agonist with Antihyperalgesic Properties and Restricted Central Nervous System Penetration. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3851-3856.
- [327] A. Gardin, K. Kucher, B. Kiese, S. Appel-Dingemanse. Cannabinoid Receptor Agonist 13, a Novel Cannabinoid Agonist: First in Human Pharmacokinetics and Safety. *Drug Metab. Dispos.* **2009**, *37*, 827-833.

- [328] A.C. Howlett, T.M. Champion, G.H. Wilken, R. Mechoulam. Stereochemical effects of 11-OH- Δ^8 -tetrahydrocannabinol-dimethylheptyl to inhibit adenylate cyclase and bind to the cannabinoid receptor. *Neuropharmacology* **1990**, 29, 161-165.
- [329] R.G. Pertwee, G. Griffin, J.A.H. Lainton, J.W. Huffman. Pharmacological characterization of three novel cannabinoid receptor agonists in the mouse isolated vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.* **1995**, 284, 241-247.
- [330] N. Murataeva, K. Mackie, A. Straiker. The CB2-preferring agonist JWH015 also potently and efficaciously activates CB1 in autaptic hippocampal neurons. *Pharmacol. Res.* **2012**, 66, 437-442.
- [331] J.W. Huffman, R. Mabon, M.J. Wu, J. Lu, R. Hart, D.P. Hurst, P.H. Reggio, J.L. Wiley, B.R. Martin. 3-Indolyl-1-naphthylmethanes: new cannabimimetic indoles provide evidence for aromatic stacking interactions with the CB(1) cannabinoid receptor. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 539-549.
- [332] C.-N. Chin, J.W. Murphy, J.W. Huffman, D.A. Kendall. The Third Transmembrane Helix of the Cannabinoid Receptor Plays a Role in the Selectivity of Aminoalkylindoles for CB2, Peripheral Cannabinoid Receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, 291, 837-844.
- [333] J.A.H. Lainton, J.W. Huffman, B.R. Martin, D.R. Compton. 1-Alkyl-3-(1-naphthoyl)pyrroles: A new class of cannabinoid. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1401-1404.
- [334] G. Tarzia, A. Duranti, A. Tontini, G. Spadoni, M. Mor, S. Rivara, P. Vincenzo Plazzi, S. Kathuria, D. Piomelli. Synthesis and structure-activity relationships of a series of pyrrole cannabinoid receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3965-3973.
- [335] Persönliche Mitteilung vom **26.08.2013**. R. Kikura-Hanajiri, Section Chief of Narcotic Section, Division of Pharmacognocny, Phytochemistry and Narcotics, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan.
- [336] K. Yamada, K.C. Rice, J.L. Flippen-Anderson, M.A. Eissenstat, S.J. Ward, M.R. Johnson, A.C. Howlett. (Aminoalkyl)indole Isothiocyanates as Potential Electrophilic Affinity Ligands for the Brain Cannabinoid Receptor. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1967-1974.
- [337] A.K. Dutta, W. Ryan, B.F. Thomas, M. Singer, D.R. Compton, B.R. Martin, R.K. Razdan. Synthesis, pharmacology, and molecular modeling of novel 4-alkyloxy indole derivatives related to cannabimimetic aminoalkyl indoles (AAIs). *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1591-1600.
- [338] J.W. Huffman, L.W. Padgett, M.L. Isherwood, J.L. Wiley, B.R. Martin. 1-Alkyl-2-aryl-4-(1-naphthoyl)pyrroles: New high affinity ligands for the cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 5432-5435.
- [339] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 39. Sitzung des Sachverständigenausschusses für Betäubungsmittel nach § 1 Abs. 2 des Betäubungsmittelgesetzes, **03.12.2012**, http://www.bfarm.de/DE/Bundesopiumstelle/BtM/sachverst/Protokolle/Ergebnisse_39.html

PUBLIKATIONSVERZEICHNIS

ORIGINALBEITRÄGE, ERSTAUTORENSCHAFTEN

S. Kneisel, F. Westphal, P. Bisel, V. Brecht, S. Broecker, V. Auwärter. Identification and structural characterization of the synthetic cannabinoid 3-(1-adamantoyl)-1-pentylindole as an additive in 'herbal incense'. *J. Mass. Spectrom.* **2012**, 47, 195-200.

S. Kneisel, P. Bisel, V. Brecht, S. Broecker, M. Müller, V. Auwärter. Identification of the cannabimimetic AM-1220 and its azepane isomer (*N*-methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indole in a research chemical and several herbal mixtures. *Forensic Toxicol.* **2012**, 30, 126-134.

S. Kneisel, V. Auwärter. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J. Mass. Spectrom.* **2012**, 47, 825-835.

S. Kneisel, V. Auwärter, J. Kempf. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test. Anal.* **2013**, 5, 657-669.

M. Hermanns-Clausen*, **S. Kneisel***, B. Szabo, V. Auwärter. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: Clinical and laboratory findings. *Addiction* **2012**, 108, 534-544.

*geteilte Erstautorenschaft

S. Kneisel, J. Teske, V. Auwärter. Analysis of synthetic cannabinoids in abstinence control: long drug detection windows in serum and implications for practitioners. *Drug Test. Anal.* **2012**, 10.1002/dta.1445.

S. Kneisel*, M. Speck*, B. Moosmann, T.M. Corneillie, N.G. Butlin, V. Auwärter. LC/ESI-MS/MS method for quantification of 28 synthetic cannabinoids in neat oral fluid and its application to preliminary studies on their detection windows. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 4691-4706.

*geteilte Erstautorenschaft

S. Kneisel, M. Speck, B. Moosmann, V. Auwärter. Stability of 11 prevalent synthetic cannabinoids in authentic neat oral fluid samples: glass versus polypropylene containers at different temperatures. *Drug Test. Anal.* **2013**, 5, 602-606.

ORIGINALBEITRÄGE, CO-AUTORENSCHAFTEN

S. Dresen, **S. Kneisel**, W. Weinmann, R. Zimmermann, V. Auwärter. Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the quantitation of synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type and methanandamide in serum and its application to forensic samples, *J. Mass. Spectrom.* **2011**, 46, 163.

F. Willecke, K. Zeschky, A. Ortiz Rodriguez, C. Colberg, V. Auwärter, **S. Kneisel**, M. Hutter, A. Lozhkin, N. Hoppe, D. Wolf, C. von zur Mühlen, M. Moser, I. Hilgendorf, C. Bode, A. Zirlik. Cannabinoid Receptor 2 Signaling Does Not Modulate Atherogenesis in Mice. *PLoS ONE* **2011**, 6, e19405.

M. Hutter, S. Broecker, **S. Kneisel**, V. Auwärter. Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in ‘herbal mixtures’ using LC-MS/MS techniques, *J. Mass. Spectrom.* **2012**, 47, 54.

B. Moosmann, **S. Kneisel**, U. Girreser, V. Brecht, F. Westphal, V. Auwärter. Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC–MS, NMR analysis and a flash chromatography system, *Forensic Sci. Int.* **2012**, 220, e17.

M. Hutter, **S. Kneisel**, V. Auwärter, M.A. Neukamm. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* **2012**, 903, 95.

B. Moosmann, **S. Kneisel**, A. Wohlfarth, V. Brecht, V. Auwärter. A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from ‘Spice’ products using a flash chromatography system. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 3929-3935.

F. Musshoff, B. Madea, G. Kernbach-Wighton, W. Bicker, **S. Kneisel**, M. Hutter, et al. Driving under the influence of synthetic cannabinoids ("Spice"): a case series, *Int. J. Legal Med.* **2013**, 10.1007/s00414-013-0864-1.

M. Hermanns-Clausen, **S. Kneisel**, M. Hutter, B. Szabo, V. Auwärter. Acute intoxication by synthetic cannabinoids – Four case reports. *Drug Test. Anal.* **2013**, *5*, 790-794.

M. Hutter, B. Moosmann, **S. Kneisel**, V. Auwärter. Characteristics of the designer drug and synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201 regarding its chemistry and metabolism, *J. Mass. Spectrom.* **2013**, *48*, 885.

ÜBERSICHTSARTIKEL

V. Auwärter, **S. Kneisel**, M. Hutter, A. Thierauf. Synthetische Cannabinoide: Forensische Relevanz und Interpretation analytischer Befunde, *Rechtsmedizin* **2012**, *22*, 259.

ZEITSCHRIFTENBEITRÄGE

S. Kneisel, F. Westphal, P. Rösner, V. Brecht, A. Ewald, B. Klein, M. Pütz, S. Thiemt, V. Auwärter. Cannabinoidmimetika: Massenspektren und IR-ATR-Spektren neuer Verbindungen aus den Jahren 2009/2010. *Toxichem. Krimtech.* **2011**, *78*, 23-35.

S. Kneisel, F. Westphal, P. Rösner, V. Brecht, A. Ewald, B. Klein, M. Pütz, S. Thiemt, V. Auwärter. Cannabimimetics: Mass spectra and IR-ATR spectra of new compounds from the years 2009 and 2010. *TIAFT Bull.* **2011**, *41 (1)*, 38-48.

S. Kneisel, F. Westphal, B. Moosmann, V. Brecht, P. Bisel, C. Vidal, A. Jacobsen-Bauer, W.-R. Bork, V. Auwärter. Trends auf dem Gebiet der synthetischen Cannabinoidmimetika: Massenspektren und ATR-IR-Spektren neuer Verbindungen aus dem Zeitraum Ende 2010 bis Ende 2011. *Toxichem. Krimtech.* **2011**, *78 (3)*, 468-479.

S. Kneisel, F. Westphal, B. Moosmann, V. Brecht, P. Bisel, C. Vidal, A. Jacobsen-Bauer, W.-R. Bork, V. Auwärter. Cannabimimetics II: Mass spectra and ATR-IR spectra of new compounds between the end of 2010 and late 2011. *TIAFT Bull.* **2011**, *41 (3)*, 29-38.

KONFERENZBEITRÄGE, VORTRÄGE

S. Kneisel, S. Dresen, V. Auwärter. Screening and quantitation of 9 synthetic CB1 receptor agonists in serum by LC-MS/MS. **2010**, *89. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (DGRM)*, Berlin.

S. Kneisel, M. Hermanns-Clausen, V. Auwärter. Severe intoxications after use of products containing synthetic cannabinoids: analytical findings versus clinical symptoms. **2011**, 17. *Symposium der Gesellschaft für Toxikologie und Forensische Chemie (GTFCh)*, Mosbach.

S. Kneisel, V. Auwärter. LC-ESI-MS/MS analysis of synthetic cannabinoids in serum: Evaluation on the spectrum and long-term detectability of compounds from 1700 forensic & clinical specimens. **2011**, *49th Annual meeting of The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)*, San Francisco, USA.

M. Speck, **S. Kneisel**, B. Moosmann, N.G. Butlin, V. Auwärter. LC/ESI-MS/MS Methode zum Nachweis von 27 synthetischen Cannabinoiden vom Aminoalkylindol-Typ, JWH-307 und Methanandamid in Oral Fluid. **2012**, *91. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (DGRM)*, Freiburg.

KONFERENZBEITRÄGE, POSTER

S. Kneisel, P. Bisel, V. Brecht, F. Westphal, S. Broecker, V. Auwärter. Identification of the Synthetic Cannabimimetic 3-(1-adamantoyl)-1-pentylindole: Another Chapter in the Cat-and-Mouse Game. **2011**, *49th Annual meeting of The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)*, San Francisco, USA.

S. Kneisel, M. Hermanns-Clausen, V. Auwärter. Severe intoxications after use of products containing synthetic cannabinoids: analytical findings versus clinical symptoms. **2011**, *49th Annual meeting of The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)*, San Francisco, USA.

M. Speck, **S. Kneisel**, B. Moosmann, N.G. Butlin, V. Auwärter. Stability of 26 synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type, JWH-307 and methanandamide in oral fluid under different storage conditions. **2012**, *50th Annual meeting of The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)*, Hamamatsu, Japan.

SONSTIGE BEITRÄGE

S. Kneisel. 'Spice' & Co. (Part I) Synthetic cannabinoids in forensic analysis. **2010**, *Arbeitsgruppenseminar AG Prof. Dr. Michael Müller, Freiburg*

S. Kneisel. 'Spice' & Co. (Part II) Synthetic cannabinoids in forensic analysis. **2011**, *Arbeitsgruppenseminar AG Prof. Dr. Michael Müller, Freiburg*

S. Kneisel. 'Spice' & Co. (Part III) Synthetic cannabinoids in forensic analysis. **2012**, *Arbeitsgruppenseminar AG Prof. Dr. Michael Müller, Freiburg*

S. Kneisel, M. Hutter. 'Spice' & Co. Synthetic cannabinoids in forensic analysis. **2012**, *Vortrag im Rahmen der Vorlesungsreihe „Medizinische Chemie“ von Prof. Dr. Michael Müller, Freiburg*

DANKSAGUNG

Zahlreiche Personen hatten einen großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit:

Herrn PD Dr. Volker Auwärter kann ich nicht genug für die Überlassung des enorm interessanten, spannenden und hochaktuellen Themas danken. Ohne seinen unermüdlichen Einsatz für die Thematik der synthetischen Cannabinoide wäre die vorliegende Arbeit weder inhaltlich noch praktisch in auch nur annähernder Form möglich gewesen.

Herrn Prof. Dr. Stefan Pollak danke ich für die Möglichkeit, am Institut für Rechtsmedizin Freiburg promovieren zu können, für seine Hilfe bei ethischen Fragestellungen sowie für die finanzielle Unterstützung für Tagungsreisen.

Herrn Prof. Michael Müller danke ich herzlich für die Betreuung dieser Dissertation seitens der Fakultät für Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften, für die Übernahme des Referates sowie für seine Bereitschaft, jederzeit zum Gelingen der Arbeit beizutragen.

Herrn Volker Brecht, Herrn Sascha Ferlaino sowie Herrn Dr. Philippe Bisel sei an dieser Stelle für die Strukturbestätigungen mittels NMR gedankt. Nur durch ihre Hilfe war es überhaupt möglich, so gut mit dem sich rapide ändernden Spektrum neu auftretender Substanzen Schritt zu halten.

Herrn Dipl.-Ing. Jürgen Kempf danke ich für die Erläuterungen zur Bedienung des GC/MS-Gerätes, für die äußerst fruchtbare Zusammenarbeit beim „DCD 5000 Projekt“ sowie für die eine oder andere (außer-) fachliche Diskussion.

Herrn Dr. Sebastian Dresen sei gedankt für seine Hilfe bei der Entwicklung der LC/ESI-MS/MS-Methode.

Meiner Kollegin Melanie Hutter danke ich für die Zusammenarbeit auf dem Thema der synthetischen Cannabinoide im Rahmen unserer gemeinsamen Promotionszeit.

Frau Kathrin Riedy, Frau Raija Hammer sowie Herrn Jens Klingele danke ich herzlich für die Aufarbeitung der zahlreichen Serumproben im Rahmen der Laborroutine.

Herrn Dr. Folker Westphal (Landeskriminalamt Schleswig-Holstein), Frau Dr. Simone Thiemt (Landeskriminalamt Bayern) sowie Herrn Ilmari Szilvay (Finnish Customs Laboratory) möchte

ich an dieser Stelle für den jahrelangen gegenseitigen Austausch von Referenzsubstanzen und (analytischen) Erfahrungen rund um das Thema „synthetische Cannabinoide“ danken.

„Meinen“ Bachelorstudentinnen Silke Möllerfriedrich und Henrike Buttner sowie „meinem“ Diplomanden Michael Speck danke ich herzlichst für ihr Engagement im Rahmen ihrer Projektarbeiten. Ohne eure Mühen würde das ein oder andere Kapitel in dieser Arbeit mit Sicherheit fehlen.

Dr. Jörg Teske von der Medizinischen Hochschule Hannover danke ich für den Erfahrungsaustausch auf dem Gebiet der Bestimmung und (Langzeit-) Nachweisbarkeit synthetischer Cannabinoide in Serum.

Der Europäischen Union, der Stadt Frankfurt am Main sowie dem Bundesministerium für Gesundheit danke ich für die finanzielle Unterstützung der Projekte „Spice & synthetic cannabinoids“ und „Spice II plus“.

Der GTFCh danke ich für die großzügige finanzielle Unterstützung, die eine Teilnahme an der TIAFT in San Francisco ermöglicht hat.

Meinen Kollegen im (angeblich nur „zweitcoolsten“) Doktorandenzimmer des Instituts Nadine Roth, Ariane Wohlfarth, Bjoern Moosmann und Verena Angerer danke ich für die fantastische Zeit, die ich mit ihnen erleben durfte. Eine Bürotemperatur von 30 °C (dank Freiburger Hochsommer in Kombination mit vier Personen, vier Rechnern und sechs Monitoren) lässt sich mit euch ganz gut ertragen. Maria Britzger möchte ich hier natürlich nicht vergessen. Du hast zweifellos sowohl unser Institutsleben als auch unsere mittäglichen Mensadiskussionen bereichert.

Meiner Familie danke ich für ihre bedingungslose Unterstützung, ohne die ich nicht bis zu diesem Punkt gekommen wäre.

Sandra, danke, dass du an meiner Seite bist, mich jederzeit unterstützt und motivierst.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE ANGABEN

Name:	Stefan Kneisel
Geburtsdatum:	13.04.1984
Geburtsort:	Halle (Saale)
Familienstand:	ledig

BERUFLICHER WERDEGANG

Seit 09/2013	Produktionsapotheker bei der Pfizer Deutschland GmbH, Freiburg
01/2010 - 09/2013	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Arbeitsbereich Forensische Toxikologie, Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
11/2009	3. Pharmazeutisches Staatsexamen und Erhalt der Approbation als Apotheker
11/2009	Verteidigung der Diplomarbeit „LC/ESI-MS/MS-Screening von Cyclooxygenase- und 5-Lipoxygenase-Inhibitoren: Quantifizierung von Eicosanoiden aus humanem Vollblut nach Stimulation“, Erlangung des akademischen Grades Diplom-Pharmazeut (Dipl.-Pharm.)
05/2009 – 10/2009	Pharmazeut im Praktikum, Adler-Apotheke, Halle (Saale)
11/2008 – 04/2009	Diplomand in der Abteilung Pharmazeutische Chemie & Bioanalytik, Institutsbereich für Pharmazeutische Chemie und Klinische Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
09/2005 – 10/2005	Famulant in der Linden-Apotheke, Hettstedt
07/2005 – 08/2005	Famulant in der Richard-Wagner-Apotheke, Halle (Saale)
10/2004 – 10/2008	Studium der Pharmazie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

ZIVILDIENTST

08/2003 – 04/2004	Zivildienst im „Förderpädagogischen therapeutischen Zentrum (FPTZ)“, Wippra
-------------------	---

SCHULISCHER WERDEGANG

08/1994 – 07/2003	Abitur am „Gymnasium am Markt“, Hettstedt
-------------------	---