Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut am
Institut für Rechtsmedizin
Direktor: Prof. Dr. Marcel A. Verhoff

Retrospektive Analyse von Blutproben auf synthetische Cannabinoide – Prävalenz, Konsummuster und Ausfallserscheinungen

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Nathalie Jadwiga Spohner, geb. Jänicke

aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 2017

Dekan:	Prof. Dr. Josef Pfeilschifter
Referent:	Prof. Dr. Stefan Tönnes
Korreferent:	Prof. Dr. Heiko Mühl
Tag der mündlichen Prüfung:	8. Dezember 2017

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater, Professor Dr. Stefan Tönnes, danke ich für die Überlassung des Themas dieser Dissertation, die engagierte und kompetente Betreuung bei der Anfertigung dieser Arbeit sowie das angenehme Arbeitsklima.

Weiter danke ich Herrn Werner Pogoda, der mir bei der Durchführung und Auswertung der folgenden Arbeit mit seiner wertvollen Erfahrung zur Seite stand.

Meinem Mann Sebastian danke ich von ganzem Herzen für die unermüdliche Motivation, seine Liebe und Unterstützung sowie meinen Eltern für die kontinuierliche Begleitung durch mein Studium.

INHALTSVERZEICHNIS

DANKSAGUNG III

INHALTSVERZEICHNIS IV

1 EINLEITUNG 1

1.1 CANNABINOIDE 1

1.1.1 Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC) 1

1.1.2 Endocannabinoide 3

1.1.3 Cannabinoide als Therapeutika 4

1.2 SYNTHETISCHE CANNABINOIDE 5

1.2.1 Substanzklassen der synthetischen Cannabinoide 6

1.2.2 Pharmakologische Eigenschaften 9

1.2.3 Symptome und Ausfallserscheinungen 11

1.2.4 Intoxikationen 13

1.2.5 Entzug 13

1.2.6 Prävalenz 14

1.2.7 Konsummuster 16

1.2.8 Nachweisverfahren 16

1.3 PROBLEMSTELLUNG 18

2 EXPERIMENTELLER TEIL 19

2.1 MATERIALIEN 19

2.1.1 Chemikalien und Reagenzien 19

2.1.2 Analyten 20

2.1.3 Geräte 24

2.1.4 Auswertung 24

2.2 ANALYTISCHE METHODE 24

2.2.1 Extraktion 24

2.2.2 Messung mit Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie 26

2.3 VALIDIERUNG DER ANALYTISCHEN METHODE 29

2.3.1 Spezifität und Selektivität 29

2.3.2 Linearität und Analytische Grenzen 30

2.3.3 Matrixeffekte und Wiederfindung 30

2.3.4 Stabilität 32

2.3.5 Genauigkeit 32

2.4 ANALYSE AUTHENTISCHER PROBEN 32

3 ERGEBNISSE 34

3.1 VALIDIERUNG DER ANALYTISCHEN METHODE 34

3.1.1 Spezifität und Selektivität 34

3.1.2 Analytische Grenzen 35

3.1.3 Matrixeffekt und Wiederfindung 36

3.1.4 Stabilität 41

3.1.5 Genauigkeit 43

3.2 PRÄVALENZ SYNTHETISCHER CANNABINOIDE BEI VERKEHRSDELIKTEN 46

3.3 KONSUMMUSTER UND AUSFALLSERSCHEINUNGEN 53

4 DISKUSSION 54

4.1 ANALYTISCHE METHODE 54

4.2 AUSWERTUNG AUTHENTISCHER PROBEN 58

4.2.1 Prävalenz 59

4.2.2 Konsumenten 62

4.2.3 Konsummuster 62

4.2.4 Substanzen 63

4.2.5 Auswirkungen 64

4.3 SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK 67

5 ZUSAMMENFASSUNG 69

6 SUMMARY 71

7 LITERATURVERZEICHNIS I

7.1 ABBILDUNGSVERZEICHNIS XVI

7.2 TABELLENVERZEICHNIS XVII

7.3 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS XVIII

8 ANHANG XX

8.1 NACHWEIS VON SYNTHETISCHEN CANNABINOIDEN IN BLUTPROBEN MITTELS LC-MSMS XX

8.2 LEBENSLAUF XXX

8.3 SCHRIFTLICHE ERKLÄRUNG XXXII

1 EINLEITUNG

Synthetische Cannabinoide (SC) haben eine dem Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC) aus der Cannabispflanze ähnliche Wirkung und sind seit 2008 unter dem Namen *Spice* (engl. für Gewürz) in Kräutermischungen, die zunächst als unbedenklich gehandelt und frei verkauft wurden, erhältlich. Seitdem steigen sowohl die Anzahlen an Intoxikationen als auch die Neusynthesen von psychoaktiven Analoga zu Δ9-THC. Von bislang hunderten beschriebenen Substanzen wurden bis Dezember 2015 160 SC vom europäischen Früherkennungssystem (engl. *EU Early Warning System*) auf dem europäischen Drogenmarkt registriert. Studien zur Prävalenz sind rar und basieren vor allem auf Umfragen, da der Nachweis aktueller, auf dem Drogenmarkt gehandelter SC durch ihre strukturelle Vielfalt limitiert ist.

1.1 Cannabinoide

Als Cannabinoide werden Substanzen definiert, die Cannabinoidrezeptoren aktivieren. Dabei liegen zum Teil deutliche strukturelle Unterschiede innerhalb der Substanzen vor. Die folgenden Gruppen werden unterschieden: klassische Cannabinoide (Phytocannabinoide) der Cannabispflanze wie Δ9-THC, Endocannabinoide wie Anandamid, klassische SC wie Nabilon, nichtklassische SC (vgl. 1.2.1) und Antagonisten wie Rimonabant. [1]

1.1.1 Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC)

Das Δ9-THC (siehe Abbildung 1) ist aufgrund seiner psychoaktiven Wirkung der bekannteste Sekundärmetabolit der Pflanzengattung *Cannabis*. Aus den Arten *Cannabis sativa* und *C. indica* konnten bislang 489 Substanzen, darunter 70 Phytocannabinoide, strukturell bestimmt werden. [2] Über die psychoaktive Wirkung hinaus ist der Nutzen von *Cannabis* zur Gewinnung von Fasern oder essbaren Samen und Öl seit Jahrtausenden bekannt. [3] Die Totalsynthese des Δ9-THC gelang 1965 [4] und führte zur Entwicklung zahlreicher SC sowie zur Entdeckung des Endocannabinoidsystems.

Das lipophile Δ9-THC alleine bereitet Zustände der Hochstimmung, Entspannung und Euphorie, [5] erhöht jedoch bei Prädisposition das Risiko für die Entwicklung von Psychosen. [6,7,8] Beim Konsum von *Cannabis* hingegen sind synergistische, additive oder antagonistische Wirkungen der Phytocannabinoide nicht auszuschließen. [9] Beispielsweise hat Δ9-THC psychotomimetische und Cannabidiol (CBD, siehe Abbildung 1) antipsychotische Effekte. [10,11] Ferner ist seit vielen Jahren bekannt, dass der Konsum von *Cannabis* zu einer Zunahme des Appetits führt, [12] was auf eine agonistische Wirkung am CB_1-Rezeptor zurückzuführen ist. [13,14]

Für den Nachweis des Cannabiskonsums im Rahmen forensischer Analysen werden neben Δ9-THC auch dessen Metaboliten 11-OH-THC und 11-nor-9-Carboxy-THC (THC-COOH) herangezogen. [15,16,17] Auch kann ein Cannabiskonsum durch Bestimmung des nicht psychoaktiven, biosynthetischen Präkursors von Δ9-THC, der Δ9-Tetrahydrocannabinolsäure-A (Δ9-THCA-A) (Abbildung 1), nachgewiesen werden. [18] Während des Erhitzens beim Rauchen von *Cannabis* wird Δ9-THCA-A partiell in Δ9-THC konvertiert. [19,20]

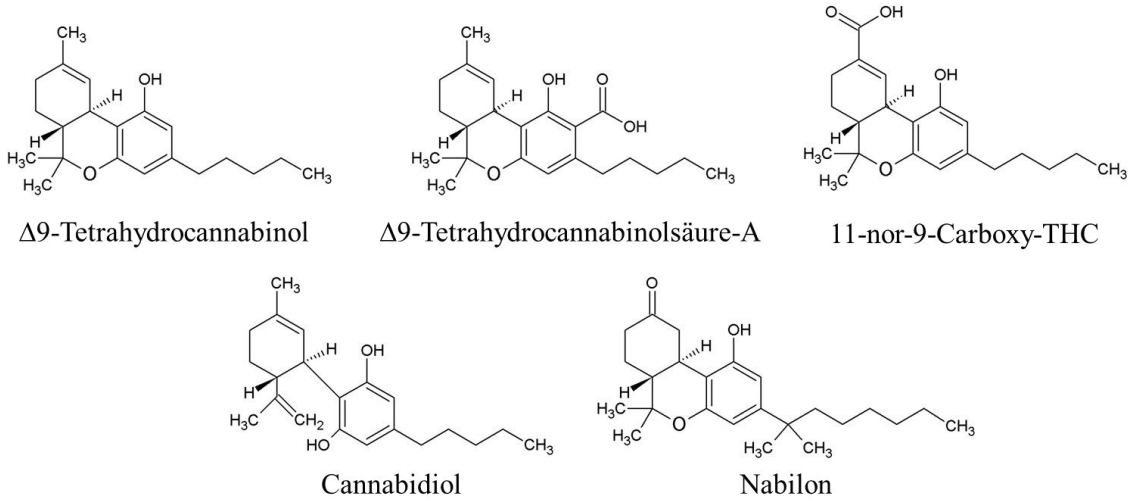


Abbildung 1: Phytocannabinoide aus der Cannabispflanze, Metabolite und klassische synthetische Cannabinoide Die Strukturen der Phytocannabinoide Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC oder Dronabinol), Δ9-Tetrahydrocannabinolsäure-A (Δ9-THCA-A) und Cannabidiol (CBD) , des Metaboliten 11-nor-9-Carboxy-THC (THC-COOH) sowie des klassischen synthetischen Cannabinoids Nabilon sind gezeigt.

Cannabis ist in allen drei Anlagen des Betäubungsmittelgesetztes (BtmG) aufgeführt, das heißt nach Anlage I nicht verkehrsfähig, nach Anlage II zu medizinischen Zwecken verkehrsfähig, aber nicht verschreibungsfähig und nach Anlage III in zugelassenen Fertigarzneien verkehrsfähig sowie verschreibungsfähig. [21,22,23]

Seit 2011 ist in Deutschland Sativex®, das erste cannabisbasierte Medikament, auf dem Markt, welches unter Anlage III des BtmG verkehrsfähig und verschreibungsfähig ist. [24] Des Weiteren sind die klassischen SC Dronabinol (Δ9-THC) und Nabilon in Anlage III des BtmG aufgeführt (vgl. 1.1.3).

1.1.2 Endocannabinoide

Zu den endogenen Cannabinoiden zählen unter anderem die Eikosanoide Anandamid (von Sanskrit *ananda* = Glückseligkeit; auch Arachidonylethanolamid genannt) und 2-Arachidonylglycerol (siehe Abbildung 2). [25,26,27] Die Arachidonsäurederivate haben über Cannabinoidrezeptorinteraktionen im Gehirn sowie im peripheren Gewebe modulatorische und regulatorische Eigenschaften und sind daher von pharmakologischem Interesse. [28,29] So beeinflussen Endocannabinoide im mesolimbischen System, welches für die Wirkung von Opioiden sowie die Aufnahme von Genussnahrungsmitteln relevant ist, den Dopaminspiegel. [30,31,32] Ferner beeinflussen Endocannabinoide die Wirkung appetitsteigernder Faktoren wie endogenen Opioiden, Neuropeptid Y, Orexin und Ghrelin, als auch appetithemmender Faktoren einschließlich *α-melanocyte-stimulation hormone* (α-MSH), *corticotropin-releasing hormone* (CRH) und dem Peptidprodukt aus dem *cocaine and amphetamine-related transcript* (CART). [33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44] Hingegen scheint das sättigungsvermittelnde Leptin an der Regulation des Endocannabinoidspiegels beteiligt zu sein. [14,33] Darüber hinaus haben Endocannabinoide stimulierende Eigenschaften in peripheren Geweben wie unter anderem dem kardiovaskulären System, dem Gastrointestinaltrakt, der Leber und dem Immunsystem. Eine aktuelle Zusammenfassung des Endocannabinoidsystems und der Wirkung von Endocannabinoiden in peripheren Organen bietet das Review von Maccarrone et al.. [45]

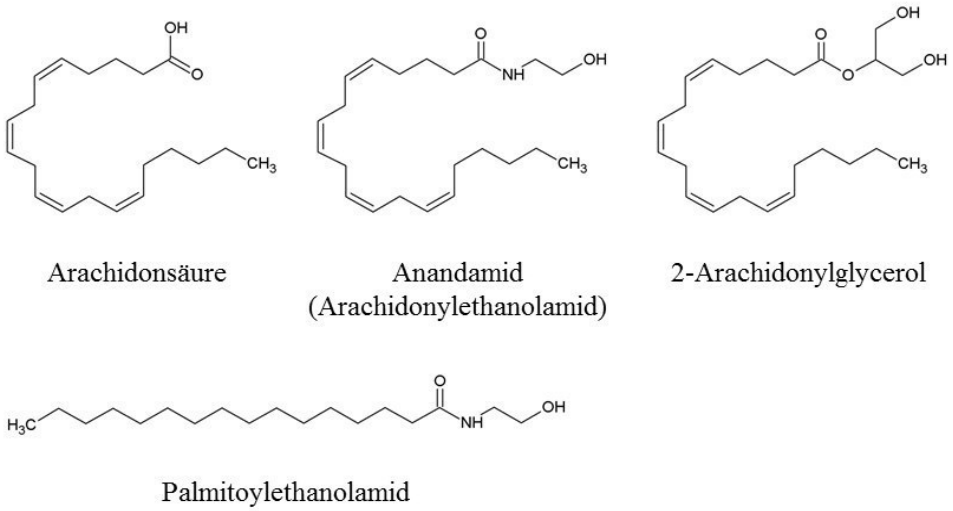


Abbildung 2: Endocannabinoide und weitere Strukturen Prekursor Arachidonsäure, Endocannabinoide Anandamid und 2-Arachidonylglycerol sowie das Fettsäureamid Palmitoylethanolamid

1.1.3 Cannabinoide als Therapeutika

Seit Entdeckung des Endocannabinoidsystems und der Annahme, dass bei einigen Erkrankungen Endocannabinoide vermindert gebildet werden, wächst die Entwicklung von SC als potentielle Therapeutika. [46] Insbesondere CB_1-Rezeptor Antagonisten und selektive CB_2-Rezeptor Agonisten repräsentieren Therapieansätze, da keine psychoaktiven Nebenwirkungen durch CB_1-Rezeptor-Stimulation auftreten sollen. [33] Dennoch führten bei dem ursprünglich von der Firma Sanofi-Synthélabo gegen Adipositas entwickelten CB_1-Rezeptor Antagonisten Rimonabant (SR141716; Acomplia®) Nebenwirkungen wie Depressionen und Suizidalität dazu, dass das SC nicht mehr vermarktet wurde. [47,48,49] Beispiele weiterer potentieller Anwendungsbereiche sind Analgesie, [50,51,52] Immunsuppression, Appetitregulation, Bewegungsstörungen wie Multiple Sklerose oder Tourette-Syndrom, [53,54] Übelkeit und Emesis, Anxiolyse, kardiovaskuläre und respiratorische Erkrankungen, Regulation des Augeninnendrucks bei einem Glaukom [55] und muskuloskelettale Störungen wie Osteoporose (Übersicht hierzu: [28,33]). Ferner existieren neben palliativen auch kurative Ansätze für die Krebstherapie sowie für die protektive Wirkung auf die Neurodegeneration. [56,57,58,59,60]

Im englischsprachigen Ausland sind Dronabinol (Marinol®) und Nabilon (Cesamet®, siehe Abbildung 1) gegen Inappetenz beim erworbenen Immundefektsyndrom (engl. *Acquired Immunodeficiency Syndrom*, AIDS) sowie als Antiemetikum bei einer Chemotherapie zugelassen. [61,62,63,64] In Deutschland können die klassischen SC ebenfalls verschrieben werden. Zusätzlich hat seit 2011 das cannabishaltige Fertigarzneimittel Nabiximols (Sativex®), welches Δ9-THC und CBD im Verhältnis 1:1 enthält, für die Therapie von schweren Spastiken bei Patienten mit Multipler Sklerose eine Zulassung. [24,53,65,66] Anwendungen von *Cannabis* außerhalb der gelisteten Indikationen sind vor allem bei Schmerzen und Muskelspasmen häufig. [67]

In Deutschland werden bislang alle SC voranglich in Anlage II des Betäubungsmittelgesetztes eingeordnet und gelten dadurch als verkehrsfähig, aber nicht verschreibungsfähig. [22] Der Handel mit SC ist damit zwar erlaubt, jedoch die Verabreichung von SC durch Ärzte an Patienten verboten.

1.2 Synthetische Cannabinoide

Zur Gruppe der SC gehören vollsynthetisch aus Grundstoffen oder halbsynthetisch, das heißt aus natürlichen Transformationsprodukten der Cannabispflanze erzeugte, strukturell variable Substanzen, die an die gleichen Rezeptoren binden wie Δ^9-THC. SC lösen beim Menschen vergleichbare Symptome wie nach Δ^9-THC-Konsum aus. Zusätzlich treten weitere, teils intensivere Ausfallserscheinungen auf.

In pharmakologischen Arbeiten wurden bislang hunderte SC beschrieben. [68] Ihre Synthese sollte zunächst der Herstellung von potentiellen Therapeutika und zur Erforschung des Endocannabinoidsystems dienen. Seit 2004 steigern SC in Kräutermischungen deren psychoaktive Wirkung und gewinnen durch ihre zum Teil legale Verfügbarkeit und mangelnde Nachweisbarkeit in Routineuntersuchungen an Popularität. [69,70] Die Kräutermischungen wurden anfänglich als legale Rauschmittel unter den Produktbezeichnungen *Spice* und K2 bekannt und gelten unter vielen Konsumenten vermeintlich als ungefährlich. [71] Die 0,4-3,0 g schweren Päckchen sind in unterschiedliche Klientel ansprechendem Design ohne Altersbeschränkung über das Internet und in sogenannten „Headshops“ erhältlich sowie mit der Aufschrift *„not for human consumption“* (engl. für „nicht für den menschlichen Verzehr“) und ohne Kennzeichnung aller enthaltenen Substanzen versehen. [69,72,73,74] Dabei variieren die

Konzentrationen der SC innerhalb der Päckchen. [74,75] Die variablen Konzentrationen resultieren aus dem Herstellungsprozess, bei dem die SC zunächst in Aceton oder Ethanol gelöst und anschließend die oft selbst psychoaktiven Kräuter mit der Lösung durchtränkt und getrocknet werden. [70,71,76] Beim Rauchen der Kräutermischungen entsteht kein typischer Cannabisgeruch. [77]

Im Auftrag des Drogenreferats Frankfurt wurde 2008 erstmals das SC JWH-018 in Kräutermischungen nachgewiesen. [78] Seitdem steigt die Zahl der in Kräutermischungen detektierten SC. Das Europäische Früherkennungssystem (engl. *EU early warning system*) registrierte 160 der psychoaktiven Substanzen bis Dezember 2015. [79] Aufgrund der bislang limitierten Nachweisverfahren von SC, welche die Kenntnis der Struktur der gesuchten Substanzen voraussetzten, können neu auf dem Drogenmarkt erhältliche SC nicht sofort erfasst werden. Auch sind auf Probenanalysen basierende Studien zur Prävalenz von SC rar und werden von der Zahl an Umfragestudien überboten (vgl. 1.2.6).

Infolge der sich summierenden Berichte von Krankenhausaufenthalten nach Konsum von SC schränkt der Gesetzgeber seit 2009 die Legalität der SC ein. Die ersten hiervon betroffenen SC waren CP 47,497 und die drei Analoga JWH-018, JWH-019 sowie JWH-073. [80] In den darauffolgenden Jahren folgten weitere Aufnahmen in das Betäubungsmittelgesetz. [22]

Für den Nachweis des Konsums von SC ist die Etablierung geeigneter Nachweisverfahren erforderlich, sowohl für die medizinische Diagnostik aufgrund zahlreicher Hospitalisierungen, als auch für die Forensik bei Straßenverkehrsdelikten, unklaren Todesfällen, Fahreignungsüberprüfungen nach Drogenkonsum, zur Abstinenzkontrolle in Therapieeinrichtungen und zur Beurteilung der Schuldfähigkeit. [72,81]

1.2.1 Substanzklassen der synthetischen Cannabinoide

Innerhalb der SC existiert eine große strukturelle Variabilität, dennoch binden alle Substanzen an Cannabinoidrezeptoren und lassen sich in vier Untereinheiten unterteilen: das Grundgerüst und seine Substituenten, den Verbindungsteil, den Ring und seine Substituenten sowie die Seitenkette (engl. *the core and substituents, the link section, the ring and substituents, and the tail section*) [siehe hierzu: [82]].

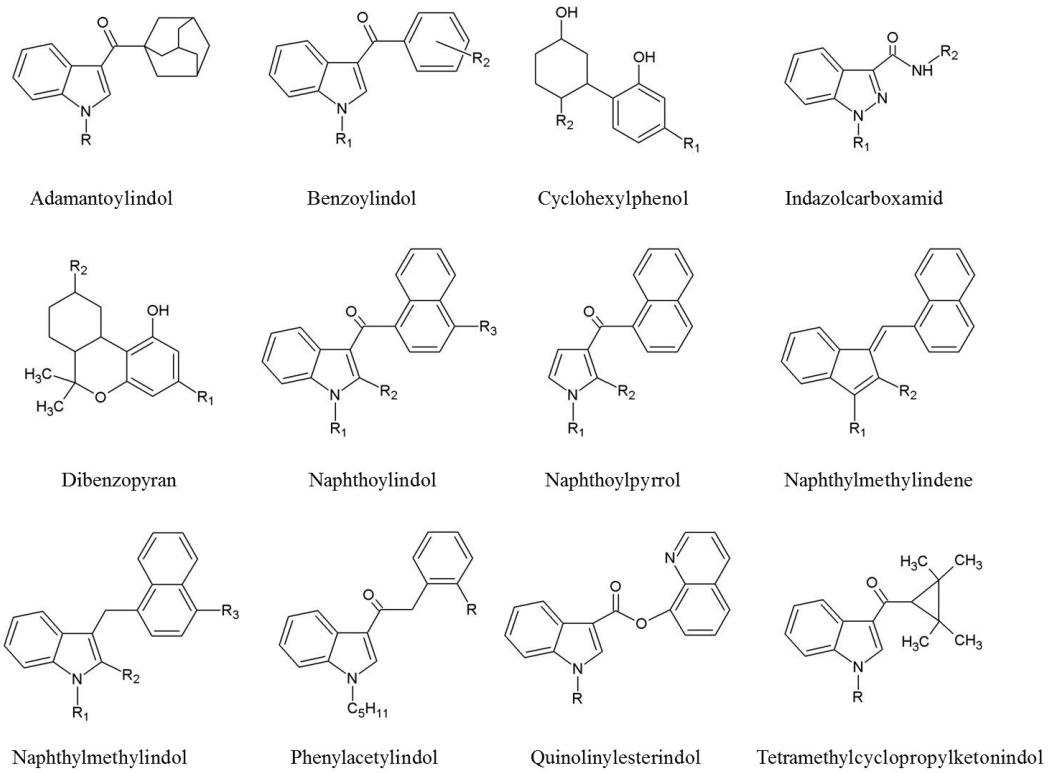


Abbildung 3: Gruppen der synthetischen Cannabinoide Synthetische Cannabinoide sind in die gezeigten Gruppen zu unterteilen. Dabei liegt eine große strukturelle Varianz vor.

Bis heute gelang die Synthese hunderter SC, welche in mehrere Gruppen zu unterteilen sind (siehe Abbildung 3; Tabelle 1). [81,83,84] Die Substanzen sind mit Ausnahme der klassischen SC wie Dronabinol und Nabilon keine Dibenzopyrane und weisen daher nur geringe strukturelle Ähnlichkeiten mit Δ9-THC auf (vgl. Abbildung 1).

Tabelle 1: Gruppen der synthetischen Cannabinoide mit Beispielen

Gruppe der synthetischen Cannabinoide	Beispiele
Adamantoylindole	AB-001
Benzoylindole	AM-2233; RCS-4; RCS-4 C4 homolog
Cyclohexylphenole	CP 47,497; CP 55,940
Indazolcarboxamide	AB-FUBINACA
Dibenzopyrane	Δ9-THC (Dronabinol); Nabilon; HU-210; O-2545
Naphthylmethylindole	JWH-175
Naphthoylindole	AM-1220; AM-2201; AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer; JWH-007; JWH-011; JWH-015; JWH-016; JWH-018; JWH-019; JWH-020; JWH-073; JWH-081; JWH-098; JWH-122; JWH-182; JWH-200; JWH-210; JWH-398; WIN 55,212-2
Naphthylmethylindene	JWH-176
Naphthoylpyrrole	JWH-030; JWH-307
Phenylacetylindole	JWH-203; JWH-250
Quinolinylesterindole	PB-22
Tetramethylcyclopropylketonindole	XLR-11
Sonstige	AM-1172 (Arachidonylaminderivat); CB-25 (THC und Anandamid Analogon); CB-52 (THC und Anandamid Analogon); CB-86 (Resorcinol-Anandamid Hybrid); Rimonabant (Biarylpyrazol); AM-251 (Biarylpyrazol)

Die Namensbezeichnungen der SC richten sich nach den Entwicklern, Institutionen oder Unternehmen der Erstsynthesen. Die Serie der Cyclohexylphenole, darunter das CP 55,940 und das CP 47,497, synthetisierte das pharmazeutische Unternehmen (Charles) Pfizer (CP) in den 1970er und 80er Jahren zur Lokalisierung von Cannabinoidrezeptoren und als Analgetika. [85,86,87] An der Hebrew Universität (HU) in Jerusalem entwickelte die Arbeitsgruppe Mechoulam SC wie das HU-210, ein dem Δ9-THC ähnliches Dibenzopyran und hochpotenten CB_1- und CB_2-Rezeptor Agonisten. [88,89] Anfang der 1990er Jahre synthetisierte das pharmazeutische Unternehmen Sterling-Winthrop (WIN) das WIN 55,212 und Analoga als Pharmakotherapeutika ohne psychotrope Nebenwirkung, jedoch zeigten Studien

cannabimimetische Effekte der Substanzen und das Unternehmen stellte die Forschungen ein. [90,91,92,93] Aus der bislang umfangreichsten Serie an SC von John William Huffman (JWH) stammt die erste in Deutschland in Kräutermischungen nachgewiesene Substanz JWH-018. [78,94] Weiter entwickelten Alexandros Makriyannis die AM-Serie, das Unternehmen Organix Inc. die O-Serie sowie das Unternehmen Randox Laboratories Limited die RCS-Serie (*research chemical suppliers*, engl. für Forschungschemikalienlieferanten). [95,96,97] Die CB-Serie synthetisierte eine italienische Arbeitsgruppe der Universität Siena. [98,99] Jüngere Substanzen sind Derivate von Adamantan, Indazolcarboxamid, Quinolinylester und Tetramethylcyclopropyl, für welche entweder den Verkauf beeinflussende, populäre Namen gewählt wurden oder die Namen Abkürzungen ihrer chemischen Bezeichnungen sind. [79,100,101,102,103,104]
Bis heute wächst die Zahl an SC. Neben der Entwicklung als Therapeutika (vgl. 1.1.3) dienen SC der Lokalisation und Charakterisierung von Cannabinoidrezeptoren. Darüber hinaus werden auf dem Drogenmarkt stetig neue SC registriert, wobei sich unter den neusynthetisierten Substanzen neben Agonisten auch Antagonisten befinden. [48,69,79,105,106,107,108]

1.2.2 Pharmakologische Eigenschaften

Die Pharmakologie von SC ist an Cannabinoidrezeptoren gekoppelt, welche die Wirkungen des Δ9-THC bei Tieren und Menschen vermitteln. [109,110] Der CB_1-Rezeptor, dessen Entdeckung mit der Bindung des CP-55,940 gelang, [111] sowie der CB_2-Rezeptor sind G-Protein gekoppelte Rezeptoren [112,113] und haben bei Stimulation eine inhibierende Wirkung auf die Adenylatzyklase, wodurch der *second messenger* (engl. für sekundärer Botenstoff) zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) vermindert vorliegt. [114,115] Ferner haben Cannabinoide eine inhibierende Wirkung auf Kalziumkanäle [116,117] und interagieren mit Neurotransmittern sowie Neuromodulatoren über präsynaptische CB_1-Rezeptoren im zentralen und peripheren Nervensystem, wodurch sich das komplexe Wirkspektrum der Cannabinoide erklärt (vgl. 1.2.2). [28,118,119,120] Da sich CB_1-Rezeptoren sowohl auf glutamatergen, als auch auf GABAergen Neuronenenden befinden, können exzitatorische und inhibierende Signalwege supprimiert werden. [121,122,123,124,125]

Die CB_1-Rezeptoren befinden sich vor allem in Strukturen des zentralen Nervensystems wie den Basalganglien, dem Kleinhirn, dem Hippocampus sowie am *Bulbus olfactorius*; eine moderate Dichte an CB_1-Rezeptoren findet sich im übrigen Vorderhirn (Prosencephalon). [126] Dabei sind vorwiegend Areale involviert, die für Gedächtnis und Bewegung zuständig sind. Ferner sind CB_1-Rezeptoren in Regionen der Schmerzübertragung und -modulation vorhanden, unter anderem im periaquäduktalen Grau (lat. *Substantia grisea periaqueductualis*), dem Hinterhorn des Rückenmarks, der Amygdala und dem Thalamus. [127,128,129,130] Im peripheren Gewebe kommen CB_1-Rezeptoren in Herz, Lunge, Leber, Pankreas, Skelettmuskulatur, vaskulärem Endothel, Fettgewebe und reproduktivem System vor, wo ihre Aktivierung zu zellulären und metabolischen Funktionen beiträgt. [131,132,133] Auf zellulärer Ebene ist bekannt, dass CB_1-Rezeptoren in Mitochondrien des Gehirns zu finden sind [134] und in direktem Zusammenhang mit mitochondriellen Funktionen stehen, die wiederum für den Stoffwechsel relevant sind. Daraus resultiert, dass CB_1-Rezeptor Agonisten die (Zell-) Atmung in Mitochondrien des Gehirns herabsetzten. [135]

Die CB_2-Rezeptoren wiederum befinden sich überwiegend in der Milz sowie in Zellen des Immunsystems. [113] In geringerer Konzentration lassen sich CB_2-Rezeptoren jedoch auch im zentralen Nervensystem nachweisen, [136,137,138,139] so dass sie zwar hauptsächlich immunmodulatorische Eigenschaften haben, jedoch teils auch analgetisch wirksam sind.

Die cannabisähnliche Wirkung von Palmitoylethanolamid (siehe Abbildung 2) lässt die Existenz eines weiteren Cannabinoidrezeptors vermuten, da das Fettsäureethanolamid weder an CB_1- noch an CB_2-Rezeptoren bindet. [140,141,142,143]

Manipulationen an der Struktur des SCs WIN55,212-2 zeigten, dass die Zahl der Substanzen, die an Cannabinoidrezeptoren binden können, umfangreich ist, so dass neue Liganden erschwert zu erfassen und kontrollieren sind. [83,144] Cannabinoide binden über unterschiedliche Wechselwirkungen an verschiedene Bindungsstellen der Cannabinoidrezeptoren. Während klassische Cannabinoide über Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Rezeptor interagieren wird angenommen, dass nicht-kovalente Bindungen zwischen Aromaten bei cannabimimetischen Indolen, Pyrrolen und Indenen obligat sind. [107] SC sind häufig potenter als klassische Cannabinoide, da sie niedrigere Ki-Werte und damit höhere Bindungsaffinitäten zu den Cannabinoidrezeptoren haben. [72,145] So wird im Vergleich zu klassischen Cannabinoiden eine geringere Menge an SC benötigt, um die Cannabinoidrezeptoren in

gleichem Maße zu stimulieren; die Symptome sind deshalb häufig stärker ausgeprägt als bei Δ9-THC (vgl. 1.2.2). [107,146] Anders als der partielle Agonist Δ9-THC sind einige SC volle Agonisten und bewirken dadurch ebenfalls stärkere Symptome. [147,148]
SC sind genotoxisch und damit potentiell kanzerogen. [149] Die SC induzieren Apoptose sowohl bei gesunden Neuronen im Gehirn, als auch bei Krebszellen in Colon und Leber, was einen Nutzen für die Krebstherapie bieten kann (vgl. 1.1.3). [150,151,152]

1.2.3 Symptome und Ausfallserscheinungen

Die Symptome nach Konsum von SC (siehe Abbildung 4) sind den Δ9-THC-typischen Symptomen ähnlich, übersteigen diese jedoch häufig in ihrer Intensität aufgrund höherer Bindungsaffinitäten der SC zu den Cannabinoidrezeptoren (vgl. 1.2.2). Hinzu kommen Δ9-THC-untypische Symptome wie Agitiertheit, Krampfanfälle, Übelkeit und Emesis. [72,153,154,155,156] Ferner sind arterielle Hypertonie und Hypokaliämie charakteristische Symptome nach dem Konsum von SC, während Tachykardie, geringer Blutzuckeranstieg, Diaphorese, Xerostomie, gerötete Konjunktiven, Halluzinationen, Angstattacken, Schwankungen in Stimmung und Wahrnehmung, Desorientierung sowie seltener akute Psychosen, akutes Nierenversagen, Myoklonien, Thoraxschmerzen, Tachyarrhythmien, Myokardinfarkte und pulmonale Insuffizienz zu den weniger kennzeichnenden Symptomen zählen. [69,157,158,159,160,161,162,163,164] Auwärter et al. führten ein Selbstexperiment durch, bei dem sich keine objektivierbaren psychomotorischen Defizite zeigten, wenn gleich die Probanden sich diesbezüglich leicht beeinträchtigt fühlten. [69]

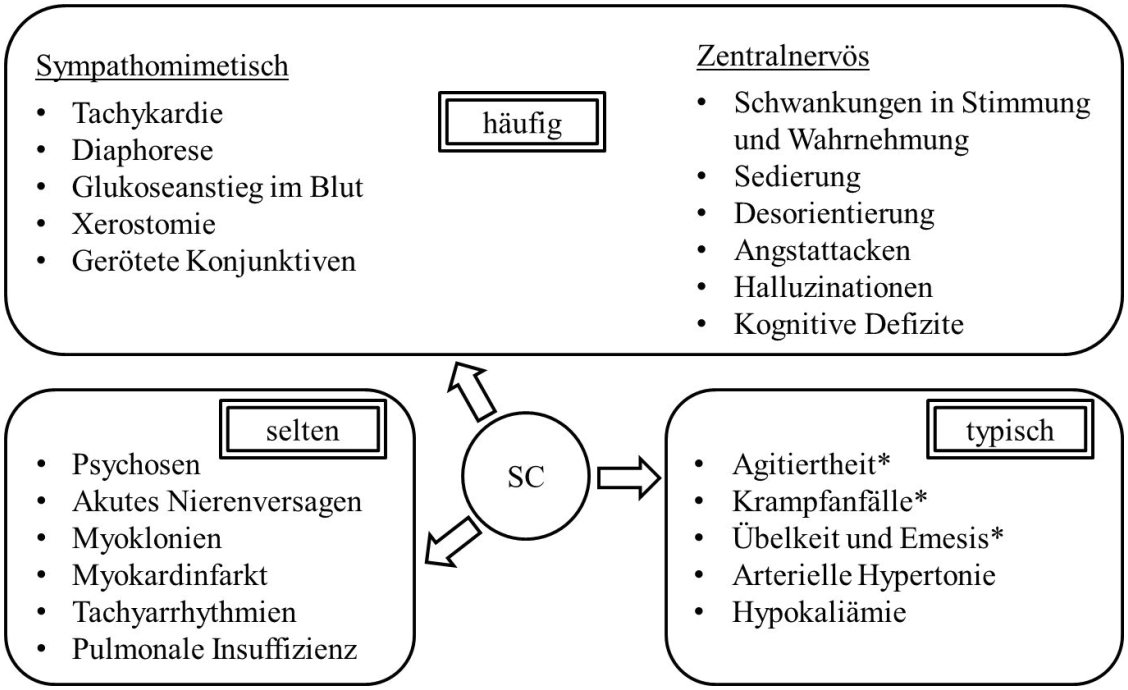


Abbildung 4: Symptome nach Konsum synthetischer Cannabinoide Gezeigt sind die durch den Konsum von synthetischen Cannabinoiden (SC) hervorgerufenen Symptome. Diese wurden zusätzlich unterteilt in typische sowie häufige und seltene Symptome. Mit einem * markierte Symptome sind untypisch für Δ9-THC.

Generell können Agonisten am CB_1-Rezeptor Müdigkeit, Schwindel, orthostatische Dysregulationen, Ataxie, Xerostomie und Immunsuppression verursachen. [28] Speziell bei Δ9-THC-Intoxikationen treten Tachykardie, kognitive Dysfunktionen, psychotrope Effekte, Angstzustände und Panikattacken sowie gerötete Augen und Sedierung auf. [72] Eine Beeinflussung der Pupillen durch Δ9-THC sei nach Huhnstock et al. nicht typisch. [165] Vielmehr setzt Cannabiskonsum die Reaktion der Pupillen auf Licht herab, weshalb die Pupillen dilatiert erscheinen. [166] Ein chronischer Konsum von Δ9-THC kann zur Entwicklung einer Toleranz führen, welche vermutlich durch reversible Veränderungen im Gehirn hervorgerufen wird. [167] Die Ausprägungsintensität der Symptome ist unabhängig von der detektierten Δ9-THCA-A Konzentration im Blut (vgl. 1.1.1). [20]

1.2.4 Intoxikationen

Mit wachsender Popularität der SC enthaltenden Kräutermischungen mehren sich Berichte von Hospitalisierungen und Intoxikationen. [153,168,169] Durch die unbestimmt hohen Beimengungen der SC mit undefinierten Zusammensetzungen sowie die potenten Eigenschaften der enthaltenen SC führt der Konsum von Kräutermischungen häufiger zu Überdosierungen als der Konsum von Δ9-THC. [77] Studien zur Wirkintensität von SC am Menschen existieren nicht, da SC nicht als Konsumprodukte entwickelt wurden. [77]
Auch stehen Todesfälle in Zusammenhang mit SC, wobei entweder ein Suizid die unmittelbar zum Tode führende Ursache war, Untersuchungen bis auf eine erhöhte Konzentration an SC im Blut zu keiner Todesursache führten, der Tod unmittelbar nach Konsum von SC enthaltenden Kräutermischungen eintrat oder im Rahmen der Autopsie SC nachgewiesen wurden. [72,158,170] Zudem weisen Untersuchungen auf ein genotoxisches Potential der SC hin. [149,171]

1.2.5 Entzug

Nach intensivem Konsum über mehrere Monate entwickeln sich sowohl bei Δ9-THC als auch bei SC Entzugserscheinungen. [172,173] Zu den Symptomen nach intensivem SC-Konsum zählen Angst und Tachykardie sowie innere Unruhe, Verlangen nach SC, nächtliche Albträume, übermäßiges Schwitzen, Übelkeit, Tremor, Kopfschmerzen, arterielle Hypertonie (bis 180/90 mmHg) und eine Besserung der Symptomatik nach erneutem Konsum von SC. [174,175] In einer Studie einer neuseeländischen Entzugsklinik dominierten nach SC-Konsum in den Jahren 2013 und 2014 Agitiertheit, Reizbarkeit, Angst sowie Stimmungsschwankungen, welche mit Diazepam und Quetiapin behandelt wurden. [176]

1.2.6 Prävalenz

Studien zur Prävalenz von SC sind rar und basieren meist auf Umfragen. Dabei unterscheiden sich die befragten Subpopulationen, was die Vergleichbarkeit der Studien einschränkt (siehe Tabelle 2). Die zum Zeitpunkt der vorliegenden Arbeit publizierten Prävalenzraten variieren insgesamt zwischen 0,1% und 16,8%. Innerhalb der Gruppe der Erwachsenen liegen die Angaben zum Konsum für das jeweils vorangegangene Jahr unter 0,5%. [177,178] Im Vergleich dazu liegen die Prävalenzraten bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen deutlich höher. In einer Studie aus den Vereinigten Staaten von Amerika haben 14,3% der Studenten (∅ 20,6 Jahre) angegeben bereits SC konsumiert zu haben. [179] Die größte Umfrage mit 14966 Teilnehmern weltweit ist eine Onlineumfrage des Musikmagazins *Mixmag* in Zusammenarbeit mit der Zeitung *The Guardian* 2011, worin 16,8% der Befragten den Konsum von SC angeben; 40,6% der befragten Konsumenten konsumierten SC innerhalb der 12 Monate vor der Befragung. [180]

Auf Probenanalysen basierende Studien sind gegenüber Umfragestudien selten und durch das Spektrum an Substanzen, welche durch die Messverfahren erfasst werden, limitiert. Eine Studie, in welcher Metaboliten der SC JWH-018 und JWH-073 in Urinproben detektiert wurden, wies eine Prävalenz von 4,5% auf. [181] Eine ähnliche Rate zeigte eine Studie unter US Soldaten. [182] In Norwegen lag die Prävalenz aus Blutproben, welche von Autofahrern mit auffälligem Fahrverhalten stammten, bei 2,2%. [183]

Tabelle 2: Zusammenfassung der Prävalenz von SC, 2009-2013 Die Studien sind mit Ausnahme der auf Probenanalysen basierenden Studien unter Athleten, Soldaten und Autofahrern umfragebasiert.

Land (Jahr)	Population	Prävalenz	
		Im letzten Jahr* [%]	Im Leben jemals [%]
Deutschland (2009)[177]	18-64 Jahre	0,4	
England / Wales (2010-2012)[178]	16-59 Jahre	0,1-0,2	
Deutschland (2008-2013)[184]	15-18 Jahre		5,0-9,0
Spanien (2010)[185]	14-18 Jahre	0,8	1,1
USA (2010)[186]	Studenten (∅ 20,6 Jahre)		8,0
USA (2012)[179]	Studenten (∅ 20,6 Jahre)		14,3
USA (2012-2013)[187,188]	8. Klasse Schüler	4,0-4,4	
USA (2012-2013)[187,188]	10. Klasse Schüler	7,4-8,8	
USA (2011-2013)[187,188]	12. Klasse Schüler	7,9-11,4	
USA (2012)[189]	9.-12. Klasse Schüler	12,0	
USA (2012)[190]	19-30 Jahre	4,8	
USA (2012)[191]	Diskothekenbesucher (∅ 26,4 Jahre)	8,2	
UK (2011)[192]	Diskothekenbesucher (∅ 29,7 Jahre)		9,0
Weltweite Onlineumfrage (2011) [180]	Internetnutzer (Median 26 Jahre)		16,8
⇨ USA (2011)[180,193]	Internetnutzer (∅ 28,4 Jahre)	14,0	
⇨ UK (2010-2011)[180,193]	Internetnutzer (∅ 28,4 Jahre)	2,2-3,3	
USA (2011)[181]	Athleten	4,5	
USA (2012)[182]	Soldaten (∅ 25,6 Jahre)	7,7	
Norwegen (2011-2012)[183]	Autofahrer (∅ 29,6 Jahre)	2,2	

*ausgehend vom Jahr der Umfrage

1.2.7 Konsummuster

Das Hauptmotiv für den Konsum von SC ist Neugierde, aber auch die Verfügbarkeit und Qualität von *Cannabis* sowie die eingeschränkte Nachweisbarkeit von SC in routinemäßigen Drogentests sind von Relevanz. [77] Ein regelmäßiger Konsum von reinen SC ist selten; vielmehr geben Konsumenten von SC häufig auch den Konsum von Δ9-THC, Alkohol und Tabak an. [180,194] Das Durchschnittsalter der SC-Konsumenten beträgt circa 25 Jahre (siehe Tabelle 2) und der SC-Konsum findet meistens alleine oder in kleinen Gruppen statt. [194]

1.2.8 Nachweisverfahren

Während der Nachweis von Δ9-THC als Beweis für Cannabiskonsum seit Jahrzehnten möglich ist und in effizienter Weise routinemäßig eingesetzt wird, [195,196,197,198,199,200,201] lassen sich SC erst seit einigen Jahren und nur bei bekannter Struktur, welche sich aus Analysen aktueller Kräutermischungen ermitteln lässt, detektieren. Die Zusammenfassung von Elsohly et al. 2014 bietet einen Überblick der Nachweisverfahren aus Kräutermischungen sowie der Verfahren zur Bestimmung der Metaboliten von SC. [202]

Der erste Nachweis von SC gelang in menschlichem Serum. Wenige Substanzen, vor allem die Cyclohexylphenole, können mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (engl. *gas chromatography-mass spectrometry*, GC-MS) nachgewiesen werden. [69] Für die meisten anderen SC wird die empfindlichere Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie (engl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MSMS) verwendet. [203,204] Die SC werden nach Extraktion in einer flüssigen Phase wie beispielsweise Acetonitril oder Wasser gelöst, im Flüssigchromatographen physikalisch getrennt und anschließend im Massenspektrometer als unzerstörte Substanzen sowie deren Fragmente quantifiziert und identifiziert. Seit 2014 verbessert eine Screeningmethode unter Verwendung einer Spektrenbibliothek die Anpassung an neue SC auf dem Drogenmarkt. [205]

Neben Serum wird Urin zur Untersuchung genutzt, da eine verlängerte Nachweisbarkeitsdauer vorliegt; unmittelbar nach Konsum abgenommene Proben sind jedoch meist negativ. [206,207,208] Da das ursprüngliche SC nicht im Urin nachweisbar ist,

ist die Kenntnis der Substanzmetaboliten und ihre Verfügbarkeit als analytischer Standard notwendig. [206,209]

Für die Untersuchung von kurz zurückliegendem SC Konsum kann Speichel (engl. *oral fluid*) verwendet werden, wobei SC nur zu einer geringen Menge in den Speichel übergehen und hohe Konzentrationen durch Kontamination in der Mundhöhle während des Rauchens zustande kommen. [210,211] Haare wiederum weisen Spuren eines länger zurückliegenden Konsums von SC auf und können zur Abstinenzkontrolle verwendet werden. [212,213] Der Verdacht auf einen SC-Abusus kann auch röntgenologisch erfolgen. [214]

Die jeweiligen Konzentrationen müssen vor dem Hintergrund des einmaligen oder chronischen Konsums beurteilt werden. Während bei einmaligem Konsum die Nachweisdauer in Serum und Urin einige Tage beträgt, sind Metaboliten im Urin bei chronischem Konsum über Wochen bis Monate nachweisbar. [72] Die Konzentrationen im Serum sinken über den Zeitraum von Tagen und ein Konzentrationsanstieg stellt einen Hinweis für einen erneuten Konsum von SC dar. [72] Des Weiteren liegen bei chronischem Konsum im Serum höhere Konzentrationen vor als bei Intoxikationen, was analog zu Δ9-THC durch Wirkstoffakkumulation und Toleranzentwicklung erklärbar ist. [215,216]

Zur Zeit gelingt der Nachweis von SC nur, wenn die Struktur der gesuchten Substanz bekannt ist. Ein Screeningverfahren konnte bislang nicht etabliert werden. In Anbetracht der strukturellen Variabilität von SC (siehe Abbildung 3) und dem stetig wechselnden Spektrum an aktuell erhältlichen Substanzen auf dem Drogenmarkt, müssen die angewendeten Nachweisverfahren kontinuierlich angepasst werden. [204]

1.3 Problemstellung

Die vorliegende Arbeit soll zeigen, wie häufig SC in forensischen Analysen aufgrund limitierter Nachweisverfahren unentdeckt bleiben. Hierfür wurde eine retrospektive Untersuchung von Blutproben des Jahres 2010 aus forensischen Fällen in Hessen durchgeführt, welche vollständig alle bis 2011 verfügbaren, bekannten SC nachweisen sollte. Ein analytisches Verfahren zur Untersuchung von Serum auf SC sollte entwickelt und validiert werden. Zusätzlich sollte die Auswertung von Untersuchungsbefunden sowie ärztlichen und polizeilichen Dokumenten Aussagen bezüglich der Korrelation von Konsummustern und Ausfallserscheinungen liefern.

2 EXPERIMENTELLER TEIL

Für die Untersuchung von Blutproben auf SC wurden die im Folgenden beschriebenen Materialien und Methoden verwendet. Eine Validierung der analytischen Methode fand statt. Die Studiendokumente wurden von der Ethikkommission der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter der Geschäftsnummer 325/12 geprüft und erhielten die Zustimmung.

2.1 Materialien

Das verwendete Material setzte sich aus den zur Analyse benötigten Chemikalien, Reagenzien und Geräten sowie den zu untersuchenden Seren des Probenkollektivs zusammen. Die Proben wurden auf 31 SC (Analyten, siehe 2.1.2) getestet.

2.1.1 Chemikalien und Reagenzien

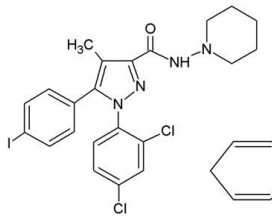
N-Hexan wurde von AppliChem (Darmstadt, Deutschland) bezogen. Die Chemikalien Acetonitril (AcCN) und Methanol (MeOH) waren von Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland) und hatten HPLC Qualität (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, engl. *high performance liquid chromatography*). Alle weiteren Lösungen und Reagenzien kamen von Merck (Darmstadt, Deutschland) sowie VWR Prolabo (Darmstadt, Deutschland) und hatten ebenfalls HPLC Qualität (siehe Tabelle 3). Das Schweineserum stammte aus einer Metzgerei.

Tabelle 3: Chemikalien

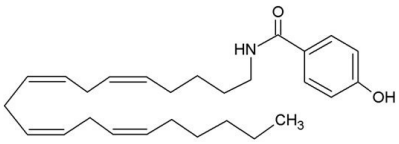
Substanzen	CAS Nr.	Hersteller
n-Hexan	110-54-3	AppliChem
Methanol	67-56-1	Sigma-Aldrich
Acetonitril	75-05-8	Sigma-Aldrich
Di-Ammonium-Hydrogenphosphat	7783-28-0	Merck
Toluol	108-88-3	Merck
Dimethyldichlorosilan in Heptan	75-78-5	VWR Prolabo
Isopropanol	67-63-0	VWR Prolabo
Schweineserum		Metzgerei

2.1.2 Analyten

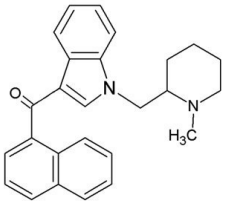
Die SC AM-251, AM-1172, AM-1220, AM-2201 und dessen N-(4-Fluoropentyl)-isomer, AM-2233, CB-25, CB-52, CB-86, JWH-007, JWH-011, JWH-015, JWH-016, JWH-018, JWH-019, JWH-020, JWH-030, JWH-073, JWH-081, JWH-098, JWH-122, JWH-203, JWH-210, JWH-250, JWH-182, JWH-200, JWH-398, O-2545, RCS-4 und dessen C4-homolog, Rimonabant sowie JWH-081-d_9 und JWH-200-d_5 (siehe Abbildung 5 und Abbildung 6) stammten von Cayman Chemical (Ann Arbor, MI, USA) und wurden als Analyten und interne Standards zur Validierung (siehe 2.3) sowie zur Herstellung der Kalibrator- und Qualitätskontrollproben genutzt.



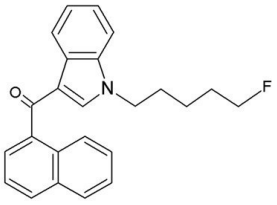
AM-251



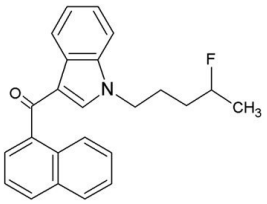
AM-1172



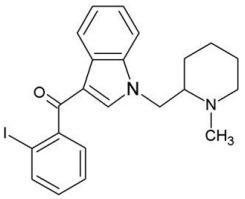
AM-1220



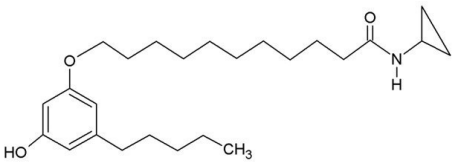
AM-2201



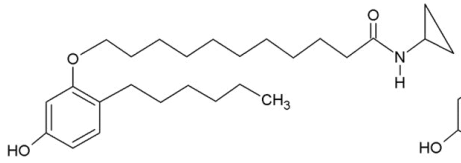
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer



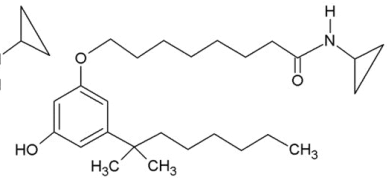
AM-2233



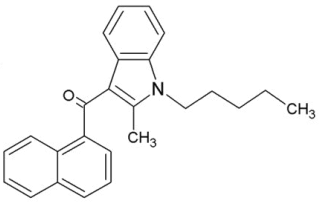
CB-25



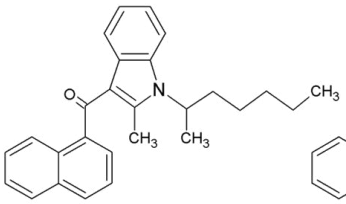
CB-52



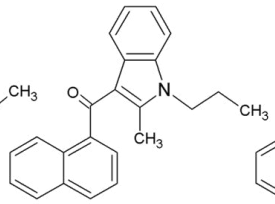
CB-86



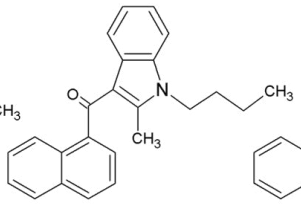
JWH-007



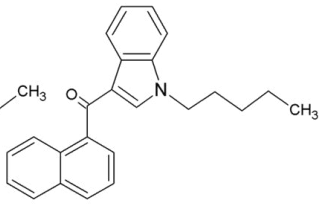
JWH-011



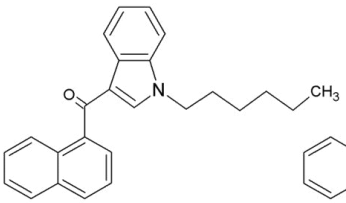
JWH-015



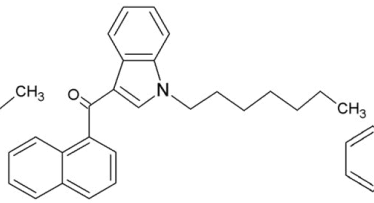
JWH-016



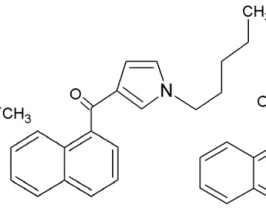
JWH-018



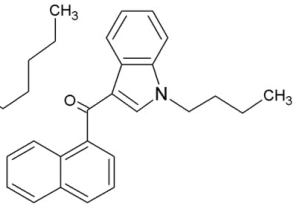
JWH-019



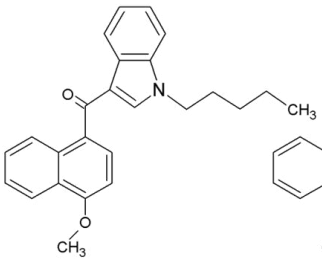
JWH-020



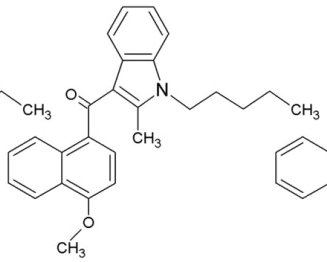
JWH-030



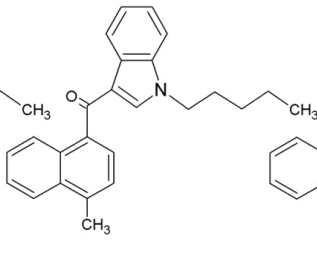
JWH-073



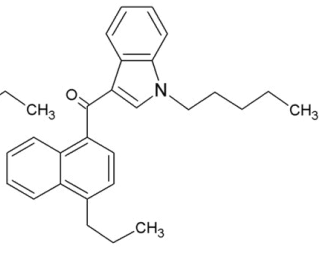
JWH-081



JWH-098



JWH-122



JWH-182

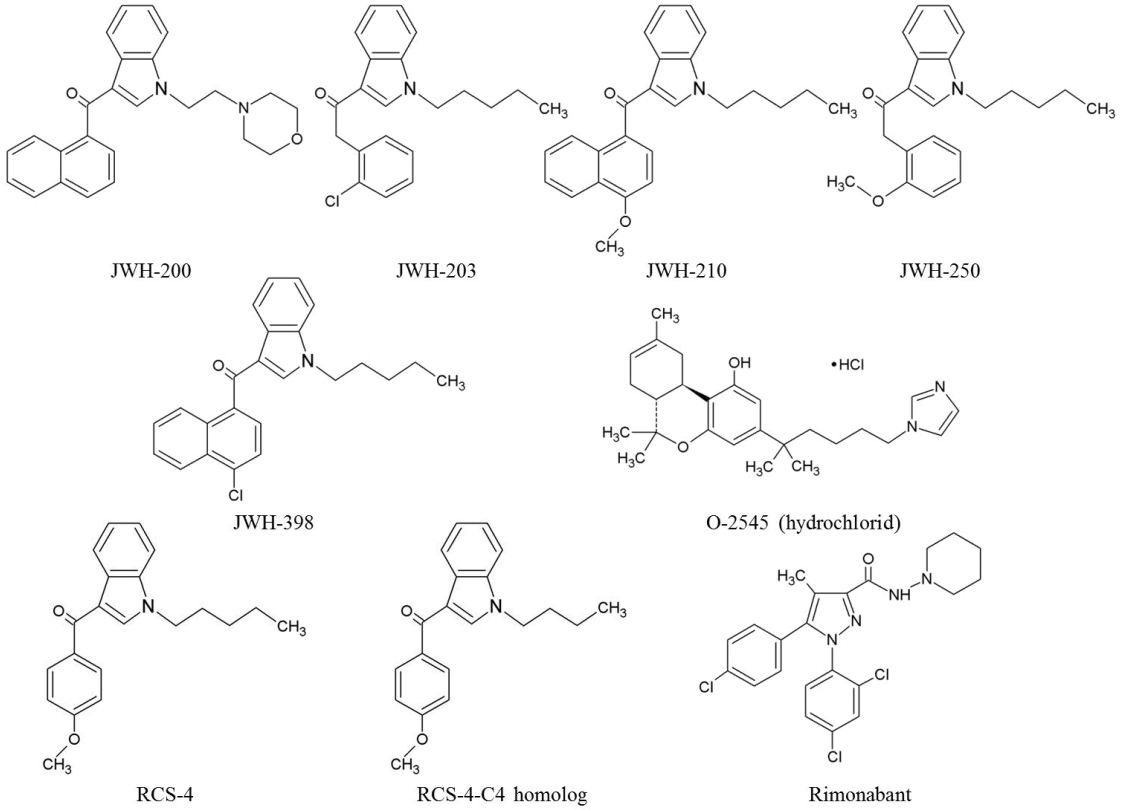


Abbildung 5: Strukturformeln von 31 synthetischen Cannabinoiden Gezeigt sind die Strukturformeln der synthetischen Cannabinoide, auf welche die im Rahmen der Studie analysierten Blutproben untersucht wurden.

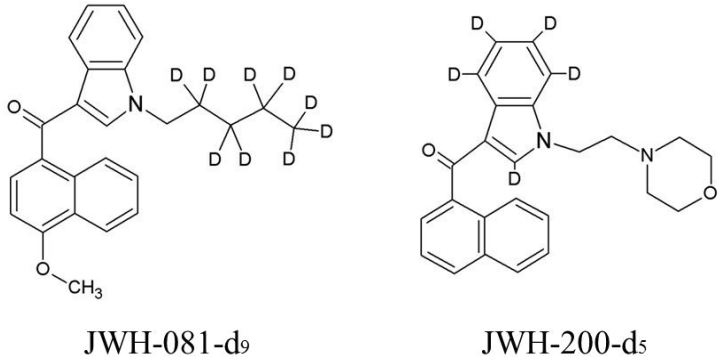


Abbildung 6: Interne Standards JWH-081-d_9 und JWH-200-d_5. Für JWH-081 wurde das deuterierte JWH-081-d_9 verwendet und für alle anderen SC das deuterierte JWH-200-d_5.

Die Standardlösungen bestehend aus den oben genannten Analyten waren in Konzentrationen zu 0,1 ng/µl; 0,01 ng/µl und 0,001 ng/µl in Acetonitril gelöst. Die Lösung der internen Standards lag in der Konzentration 0,01 ng/µl in Methanol gelöst vor. Für JWH-081 diente das deuterierte JWH-081-d_9 als interner Standard und für alle anderen SC das deuterierte JWH-200-d_5 (siehe Abbildung 6).

Tabelle 4: CAS-Nummern der synthetischen Cannabinoide und internen Standards

Substanzen	CAS-Nr.
AM-251	183232-66-8
AM-1172	251908-92-6
AM-1220	137642-54-7
AM-2201	335161-24-5
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	1427325-95-8
AM-2233	444912-75-8
CB-25	869376-63-6
CB-52	869376-90-9
CB-86	1150586-64-3
JWH-007	155471-10-6
JWH-011	155471-13-9
JWH-015	155471-08-2
JWH-016	155471-09-3
JWH-018	209414-07-3
JWH-019	209414-08-4
JWH-020	209414-09-5
JWH-030	162934-73-8
JWH-073	208987-48-8
JWH-081	210179-46-7
JWH-098	316189-74-9
JWH-122	619294-47-2
JWH-182	824960-02-3
JWH-203	864445-54-5
JWH-210	824959-81-1
JWH-250	864445-43-2
JWH-200	103610-04-4
JWH-398	1292765-18-4
O-2545 (Hydrochlorid)	874745-43-4
RCS-4	1345966-78-0
RCS-4-C4 homolog	1345966-77-9
Rimonabant	168273-06-1
JWH-081 d_9	1651833-49-6
JWH-200 d_5	1651833-51-0

2.1.3 Geräte

Folgende Geräte wurden für die Extraktion von SC aus Blutproben verwendet:

- Heidolph Reax 2000 Schüttelmaschine
- Heraeus Instruments Biofuge Pico; 13,0x1000 rpm; 10 min
- Heraeus Labofuge 400; 3500 Umdrehungen/min
- Zymark TurboVap LV Evaporator; Temperatur: 25°C; Gasdruck: 30/2,0
- Agilent 1290 *Infinity Liquid Chromatograph* gekoppelt mit Agilent 6460 *Triple Quadrupol* ESI LC-MS (siehe 2.2.2)

2.1.4 Auswertung

Die Aufzeichnung und Evaluation der Daten aus dem LC-MSMS wurde mit der Software Agilent MassHunter (Quantitative Analysis, Version B 06.00) von Agilent Technologies gelesen und zur Validierung in Valistat 2.0 und MS Excel 2010 exportiert. Die Auswertung positiver Ergebnisse der Serumanalysen erfolgte mit MS Excel 2010. Die Testergebnisse auf Alkohol und andere Drogen und Medikamente sowie die ärztlichen und polizeilichen Dokumente wurden aus den im Institut für Rechtsmedizin Frankfurt am Main vorliegenden Fallakten entnommen (2.4).

2.2 Analytische Methode

Eine analytische Methode zur Untersuchung von Blutproben auf SC basierend auf der im Folgenden beschriebenen flüssig-flüssig Extraktion wurde durch die Modifikation der von Kneisel et al. [204] beschriebenen Methode entwickelt.

2.2.1 Extraktion

Eine flüssig-flüssig Extraktion ist die Überführung von Analyten mit gleichen chemischen Eigenschaften aus einem flüssigen Stoffgemisch, in diesem Fall aus Serum, in ein flüssiges Extraktionsmittel, hier n-Hexan.
Analog zur Extraktionsmethode von Kneisel et al. [204] wurden auf 200 µl einer

vorgelegten 1 M (1 mol/l) Pufferlösung Di-Ammonium-Hydrogenphosphat (pH 9,5) 200 µl des zu untersuchenden Serums und 1 ml des Extraktionsmittels n-Hexan gegeben. Zu jedem Extraktionsgemisch wurde ein festes Volumen von 20 µl der internen Standards JWH-081-d_5 und JWH-200-d_9 (siehe 2.1.2) hinzugegeben, um Konzentrationsverluste beim Vermessen der Proben nachvollziehbar zu machen. Die internen Standards waren jeweils zu 0,01 ng/µl in Methanol gelöst. Der Puffer diente hier zur Stabilisierung des pH-Wertes im alkalischen Bereich und verhinderte eine Protonierung der Analyten, welche sich ansonsten negativ auf die Extraktion auswirkt.

Tabelle 5: Pipettierschema der flüssig-flüssig Extraktion

Phosphatpuffer (1 M, pH 9,5)	200 µl
Serum	200 µl
n-Hexan	1000 µl
Interne Standardlösung (0,01 ng/µl)	20 µl
	1420 µl

Das Gemisch wurde anschließend für 2 min geschüttelt und für 10 min bei 13000 rpm zentrifugiert. Daraufhin wurde der Überstand bestehend aus dem Extraktionsmittel n-Hexan und den Analyten in silanisierte Reagenzgläser überführt und das n-Hexan im Turbovap für 5 min bei 25°C abgedampft. In die trockenen Reagenzgläser wurden 50 µl AcCN/MeOH/H_2O (6:6:4, v/v/v) gegeben. Ein kurzes Schütteln der Reagenzgläser brachte die extrahierten Substanzen erneut in Lösung. Die Lösung wurde anschließend für 1 min zentrifugiert, um das gesamte Volumen am Boden des Reagenzglases zu sammeln. Der Inhalt aus den Reagenzgläsern wurde zur Analyse in HPLC-Vials mit Mikroeinsatz überführt.

Zusätzlich zu den Serumproben wurden Kalibrator- und Qualitätskontrollproben (QC-Proben) angesetzt, welche quantitative Aussagen über die in den Serumproben gemessenen Daten ermöglichen. Die Kalibratorproben wurden aus Standardlösungen (siehe 2.1.2) in den Konzentrationen 0,1 ng/ml; 0,5 ng/ml und 3,0 ng/ml, die QC-Proben in den Konzentrationen 0,75 ng/ml; 0,9 ng/ml und 2,0 ng/ml in je 200 µl Schweineserum angesetzt und wie die Serumproben behandelt.

Im Rahmen von Vorversuchen zeigte sich, dass durch die Silanisierung der verwendeten Reagenzgläser Verluste beim Überspülen der Extrakte aus Serumproben vermindert werden können. Daher wurden die Reagenzgläser mit einer Silanisierungslösung bestehend aus Dimethyldichlorosilan in Heptan gespült, mit Toluol und Isopropanol gewaschen und anschließend bei 60°C getrocknet.
Weitere Vorversuche dienten der Überprüfung von Auswirkungen auf eine sich an die Extraktion (siehe 2.2.1) anschließende Stabilisierung der Analyten mit isopropanolischer Salzsäure (Isopropanol/HCl), wie dies in anderen forensischen Untersuchungsverfahren üblich ist. [217] Hierzu wurden nach dem Abdampfen des n-Hexans die Analyten erneut mit 150 µl n-Hexan überspült und im Anschluss in HPLC-Vials mit Mikroeinsatz mit 50 µl vorgelegtem Isopropanol/HCl überführt. Das n-Hexan-Isopropanol/HCl-Gemisch wurde für wenige Minuten abgedampft und die Analyten in 50 µl AcCN/MeOH/H_2O gelöst.

2.2.2 Messung mit Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie

Die Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie (engl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MSMS) ist ein analytisches Verfahren, bei dem Analyten aus einem flüssigen Gemisch zunächst aufgetrennt und anschließend anhand charakteristischer Fragmente identifiziert werden.
Zur Analyse der Probenextrakte wurde der Agilent 1290 *Infinity Liquid Chromatograph* (engl. für Flüssigchromatograph) in Verbindung mit dem Agilent 6460 *Triple Quadrupol* ESI LC-MS (Agilent *Jet Stream Technology*) von Agilent Technologies (Waldbronn, Deutschland) verwendet. Die chromatographische Trennung der Analyten gelang bei 50°C mit einem Injektionsvolumen von 5 µl auf einer Kinetex™ XB-C18, 100 Å, 100 x 2,1 mm ID Säule, die mit einer Vorsäule (Kinetex™ XB-C18) von Phenomenex (Aschaffenburg, Germany) ausgestattet war. Die mobile Phase bestand aus 0,01% Ameisensäure mit 50 mM Ammoniumformiat (A) und aus AcCN mit 0,1% Ameisensäure (B). Zur Elution wurde bei einer Flussrate von 0,5 ml/min ein Gradient von initial 40% B zu 100% B innerhalb von 9 min angelegt, welcher für 2 min aufrecht erhalten wurde bis anschließend wieder bei 40% B equilibriert wurde. Die Parameter für die Detektion waren: Gastemperatur 350°C, Gasflussrate 13 l/min, Zerstäuber 60 psi,

Flussrate des Schleierluftstroms (engl. *sheath gas flow*) 12 l/min, Kapillarspannung 3500 V. Diese Parameter wurden empirisch bestimmt.

Die Analyten wurden mittels *multiple reaction monitoring* (MRM; siehe Tabelle 6) detektiert. Zur Identifikation dienten die Retentionszeiten und die Qualifier Ionenverhältnisse (engl. *qualifier ion ratios*; ±20% in Bezug auf die Kalibratoren). Die Fragmentierung der Analyten zur Bestimmung der Qualifier wurde mit Hilfe der MassHunter *Optimizer software* (engl. für Optimierungssoftware) von Agilent durchgeführt.

Tabelle 6: Parameter des Tandemmassenspektrometers für die Detektion der Analyten Retentionszeiten und Übergänge des *multiple reaction monitoring* (MRM); modifiziert nach Jaenicke et al. [218]

Analyt	Retentionszeit [min]	Prekursor [m/z]	Quantifier [m/z] (CE [V])	Qualifier [m/z] (CE [V])	Qualifier [m/z] (CE [V])
AM-1220	0,52	383,2	98,1 (32)	112,1 (16)	
AM-2233	0,52	459,1	98,1 (32)	112,1 (20)	
JWH 200-d_5	1,20	390,2	155,1 (24)	114,1 (32)	
JWH-200	1,22	385,2	155,0 (24)	127,0 (64)	114,0 (36)
O-2545	2,00	409,3	69,1 (56)	287,1 (36)	
RCS-4-C4 homolog	3,49	308,2	135,0 (24)	77,0 (60)	
AM-2201	3,97	360,2	155,0 (28)	127,0 (64)	89,0 (70)
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	3,97	360,2	155,0 (32)	127,0 (68)	340,1 (20)
JWH-030	3,98	292,2	155,0 (16)	127,1 (44)	
JWH-015	4,08	328,2	155,0 (20)	127,1 (44)	200,1 (16)
RCS-4	4,19	322,2	135,0 (20)	107,0 (40)	
JWH-250	4,53	336,2	121,0 (16)	91,0 (44)	

Analyt	Retentionszeit [min]	Prekursor [m/z]	Quantifier [m/z] (CE [V])	Qualifier [m/z] (CE [V])	Qualifier [m/z] (CE [V])
JWH-073	4,58	328,2	155,0 (20)	127,0 (48)	
Rimonabant	4,71	463,1	363,0 (28)	164,0 (56)	
JWH-016	4,81	342,2	155,0 (20)	158,0 (44)	127,0 (60)
CB-25	4,84	404,3	58,1 (28)	347,2 (16)	181,0 (24)
JWH-203	4,92	340,2	125,0 (32)	99,0 (70)	
CB-86	5,09	418,3	58,1 (32)	292,1 (16)	182,1 (20)
AM-251	5,12	555,0	327,9 (52)	455,0 (28)	
JWH-018	5,15	342,2	155,0 (20)	127,0 (48)	
JWH-081-d_9	5,33	381,3	185,0 (20)	223,2 (24)	
JWH-081	5,36	372,2	185,1 (20)	157,0 (44)	
CB-52	5,37	418,3	58,1 (24)	361,2 (16)	
JWH-007	5,40	356,2	155,0 (28)	127,0 (64)	
JWH-098	5,57	386,2	184,9 (24)	157,0 (44)	
JWH-122	5,63	356,2	169,0 (24)	141,1 (44)	
JWH-019	5,72	356,2	155,0 (24)	127,0 (56)	228,1 (20)
JWH-398	6,04	376,2	188,9 (28)	160,9 (56)	
JWH-210	6,12	370,2	183,1 (20)	153,0 (52)	
JWH-011	6,22	384,2	155,2 (24)	127,0 (56)	
JWH-020	6,29	370,2	155,1 (24)	127,1 (56)	
AM-1172	6,31	410,3	120,9 (28)	290,2 (12)	

Analyt	Retentionszeit [min]	Prekursor [m/z]	Quantifier [m/z] (CE [V])	Qualifier [m/z] (CE [V])	Qualifier [m/z] (CE [V])
JWH-182	6,60	384,2	197,1 (24)	141,1 (48)	

2.3 Validierung der analytischen Methode

Die analytische Methode wurde nach den aktuellen Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen [219] für die Bestimmung von 31 SC (Abbildung 5) in Serum validiert. Hierfür wurde drogenfreies Serum mit SC (Analyten) versetzt und wie in 2.2.1 beschrieben aufgearbeitet und analysiert. Die Validierung beinhaltete die folgenden Kriterien: Selektivität und Spezifität, Linearität und analytische Grenzen, Matrixeffekte und Wiederfindung, Stabilität sowie Genauigkeit. Für die Auswertung wurde die Software Valistat 2.0 (Arvecon GmbH, Walldorf, Deutschland) verwendet.

2.3.1 Spezifität und Selektivität

Die Spezifität wurde durch die Anwendung der analytischen Methode auf Leerproben, welche aus Überständen eines Blutspendedienstes in Frankfurt am Main stammten, geprüft. Die Selektivität wurde durch die simultane Bestimmung mehrerer Analyten in einer Probe analysiert, indem Standardlösungen mit allen untersuchten Analyten präpariert (siehe 2.1.2) und mit der oben beschriebenen Methode getrennt wurden. Um Interferenzen bei der Bestimmung der Analyten durch andere Drogen auszuschließen, wurde Schweineserum mit Cannabinoiden, Designerdrogen, Benzodiazepinen, Psychopharmaka, Opiaten und Amphetaminen in Konzentrationen größer den jeweiligen Nachweisgrenzen versetzt und analysiert.

2.3.2 Linearität und Analytische Grenzen

Zur Bestimmung der analytischen Grenzen wurden Kalibratorproben der Konzentrationen 0,1 ng/ml; 0,2 ng/ml; 0,3 ng/ml; 0,4 ng/ml; 0,5 ng/ml; 0,6 ng/ml; 0,7 ng/ml; 0,8 ng/ml; 0,9 ng/ml; 1,0 ng/ml; 1,2 ng/ml; 1,4 ng/ml; 1,6 ng/ml; 1,8 ng/ml und 2,0 ng/ml aus einer Standardlösung (siehe 2.1.2) in je 200 µl Schweineserum angesetzt und in Einfachbestimmung vermessen. Ausgehend von der niedrigsten nachweisbaren Konzentration der jeweiligen Analyten wurden fünf gleichmäßig über den Kalibrationsbereich verteilte Konzentrationen gewählt. Nach DIN 32645 ergaben sich die Nachweisgrenzen (engl. *Limit of Detection,* LOD) aus den Peakflächenverhältnissen des schwächsten Ions der Analyten (Qualifierion) und den Sollkonzentrationen der Kalibratorproben sowie die Bestimmungsgrenzen (engl. *Limit of Quantification*, LOQ) aus den Peakflächenverhältnissen der Analyten (Quantifier) und den Sollkonzentrationen der Kalibratorproben. [219,220]

Zur Bestimmung des Linearitätsbereichs der Methode wurden je sechs Kalibratorproben der Konzentrationen 0,1 ng/ml; 0,5 ng/ml; 1,0 ng/ml; 2,0 ng/ml; 4,0 ng/ml; 6,0 ng/ml; 8,0 ng/ml und 10,0 ng/ml aus einer Standardlösung (siehe 2.1.2) in 200 µl Schweineserum angesetzt und vermessen. Durch Auftragen der Peakflächenverhältnisse gegen die Sollkonzentrationen der Kalibratoren jeweils für das Quantifier - und das Qualifierion wurde der Linearitätsbereich in Sechsfachbestimmung und anhand von mindestens sechs Konzentrationen ermittelt.

2.3.3 Matrixeffekte und Wiederfindung

Zur Ermittlung von Matrixeffekten und Wiederfindung wurden je sechs Reinsubstanzlösungen, je sechs Extrakte sowie je sechs Matrixproben bei Konzentrationen von 1,0 ng/ml und 4,0 ng/ml hergestellt. [221] Bei den Extrakten wurden die Analyten vor der Extraktion und der interne Standard danach hinzugegeben. Bei den Matrixproben wurden die Analyten und der interne Standard nach der Extraktion hinzugegeben (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Pipettierschema zur Bestimmung von Matrixeffekt und Wiederfindung

	Reinsubstanzlösung [µl]	Extrakt [µl]	Matrixprobe [µl]
Phosphatpuffer (1 M, pH 9,5)		200	200
Serum		200	200
n-Hexan		1000	1000
Standardlösung (0,01 ng/µl)		20 oder 80	
Extraktion			
Standardlösung (0,01 ng/µl)	20 oder 80		20 oder 80
Interne Standardlösung (0,01 ng/µl)	20	20	20
LC-MSMS Analyse			

Für die Extrakte und Matrixproben wurden sechs verschiedene Seren verwendet, welche aus Überständen von Blutproben von verschiedenen psychiatrischen Patienten der Universitätsklinik Frankfurt zufällig gewählt wurden.

Zur Berechnung des Matrixeffekts wurden die Peakflächenverhältnisse der Matrixproben zu denen der Reinsubstanzlösungen sowie für die Wiederfindungsrate die Peakflächenverhältnisse der Extrakte zu denen der Matrixproben bestimmt (siehe Abbildung 7). [221]

$$Matrixeffekt = \frac{Matrixprobe}{Reinsubstanz} \cdot 100$$

$$Wiederfindung = \frac{Extrakt}{Matrixprobe} \cdot 100$$

Abbildung 7: Berechnung von Matrixeffekt und Wiederfindung

2.3.4 Stabilität

Zur Bestimmung der Stabilität der Proben auf dem a*utosampler* (engl. für Probengeber) des LC/MSMS wurden Proben mit Analyten versetzt (1,0 ng/ml und 3,0 ng/ml), auf dem *autosampler* bei 20°C gelagert und an vier nacheinander folgenden Tagen vermessen. Das Verhältnis der absoluten Peakflächen aus den Analysen zu denen aus der ersten Analyse wurde bestimmt. [219]

2.3.5 Genauigkeit

Zum Nachweis der Genauigkeit wurden homogene Pools der Konzentrationen 0,5 ng/ml; 1,0 ng/ml und 2,0 ng/ml aus der Standardlösung (siehe 2.1.2) in 5 ml Schweineserum angesetzt, im Anschluss in je 500 µl Proben aliquotiert und bei -20°C gelagert. Anschließend wurden pro Tag je zwei Proben der niedrigen, mittleren und hohen Konzentration aus den Aliquoten sowie frisch angesetzte Kalibratorproben mit den Konzentrationen 0,1 ng/ml; 0,5 ng/ml und 3,0 ng/ml und QC-Proben mit den Konzentrationen 0,75 ng/ml; 0,9 ng/ml und 2,0 ng/ml analysiert. Zur Bestimmung der Genauigkeit dienten mindestens acht Aliquote verschiedener homogener Pools. Anschließend wurde der systematische Fehler (Bias) aus dem Mittelwert aller Bestimmungen und dem Sollwert für jede Konzentration ermittelt. [219] Ferner wurden Wiederholpräzision und Laborpräzision mit der Software Valistat 2.0 (Arvecon GmbH, Walldorf, Deutschland) errechnet.

2.4 Analyse authentischer Proben

Zur Erfassung der Prävalenz von SC im Jahr 2010 wurde eine auf Probenanalysen basierende, retrospektive Querschnittsstudie durchgeführt. Das untersuchte Probenkollektiv umfasste eine Stichprobe aus 2201 Blutproben aus Verkehrs- (1815 Fälle; V) und Kriminaldelikten (386 Fälle; P), die 2010 zur Untersuchung auf Drogen und Medikamente an das Institut für Rechtsmedizin Frankfurt am Main eingesandt wurden. Bei allen Blutproben erfolgte eine chronologische Vergabe von V- und P-Nummern zwecks Anonymisierung, die eine dritte Person im Rahmen der routinemäßigen Aktenanlage ausführte. Der Stichprobenumfang (n=422, 354 Fälle aus

Verkehrs- und 68 Fälle aus Kriminaldelikten) ergab sich nach systematischer Auswahl jeder fünften Blutprobe (20% aller Blutproben des Jahres 2010). Die Analyse der Blutproben erfolgte mittels der in 2.2.1 beschriebenen Methode auf alle bis 2011 auf dem deutschen Drogenmarkt identifizierten SC (vertrauliche Information des Bundeskriminalamts). Die Analyseergebnisse wurden zur Verifizierung durch zwei voneinander unabhängige Personen beurteilt. Die Analyse der positiven Proben wurde in einer Serie wiederholt. In jeder Messserie wurden drei Kalibratorproben in den Konzentrationen 0,1 ng/ml; 0,5 ng/ml und 3,0 ng/ml sowie drei QC-Proben in den Konzentrationen 0,75 ng/ml; 0,9 ng/ml und 2,0 ng/ml verwendet. Nach Abschluss der Blutanalyse erfolgte zur Beurteilung von Konsummustern und Ausfallserscheinungen eine Einsicht in vorhergehende Testergebnisse auf Alkohol und andere Drogen und Medikamente sowie in ärztliche und polizeiliche Dokumente wie „Protokoll und Antrag zur Blutuntersuchung“, „ärztliches Untersuchungsprotokoll“ und „dienstliche Erklärung zu auffälligen Merkmalen, insbesondere auf Alkohol und Drogen“. Die hierin enthaltenen Informationen bezogen sich auf kognitive und motorische Defizite inklusive Koordinierungstests, Verhaltensweisen und Stimmungen, Auffälligkeiten der Augen inklusive der Pupillenreaktion, den Geruch der Atemluft, das Sprechverhalten, das äußere Erscheinungsbild sowie den Gesamteindruck. Zusätzlich wurden die Aussagen der Verdächtigen bezüglich vom jeweiligen Vorfall unabhängigen Krankheiten sowie des Konsums von Drogen oder Medikamenten innerhalb der zurückliegenden 24 Stunden erfasst.

Zur Trendabschätzung diente einerseits eine Stichprobe (n=30) aus Blutproben des Jahres 2013, die bei Verkehrskontrollen während eines Festivals in Deutschland ebenfalls zur Untersuchung auf Drogen und Medikamente entnommen wurden. Andererseits lieferte die digitale Datenbank des Instituts für Rechtsmedizin Frankfurt am Main quantitative Ergebnisse über die in den Jahren 2012 und 2013 mit der gleichen Methode auf SC positiv getesteten Blutproben.

3 ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Detektion von SC in Blutproben eine flüssig-flüssig Extraktion für 31 SC entwickelt und validiert (2.3). Unter den 422 analysierten Blutproben waren 12 Proben positiv für SC, woraus eine Prävalenz von 2,8% ermittelt wurde. Die Auswertung der Konsummuster ergab in 10 Fällen einen Mischkonsum mit anderen Drogen und Medikamenten; die Kombination von SC Konsum mit *Cannabis* oder Alkohol war mit je vier Fällen häufig. Die dokumentierten Ausfallserscheinungen waren überwiegend moderat und mit den Wirkungen von Agonisten an Cannabinoidrezeptoren, Alkohol oder anderen in den Blutproben nachgewiesenen Drogen und Medikamenten erklärbar.

3.1 Validierung der analytischen Methode

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Validierung nach den Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen [219] für die Bestimmung von 31 SC (Analyten) in Serum mittels flüssig-flüssig Extraktion (2.2.1) aufgeführt. [204] Auf eine Stabilisierung mit isopropanolischer Salzsäure (vgl. 2.2.1) wurde verzichtet, da hierbei Analyten nicht mehr nachweisbar waren.

3.1.1 Spezifität und Selektivität

Alle Analyten waren mit der in 2.2.1 beschriebenen analytische Methode spezifisch und selektiv nachweisbar, da die untersuchten Leerproben keine falsch-positiven Ergebnisse lieferten und mehrere Analyten in einer Probe diskrete Peaks ergaben.
In der qualitativen Untersuchung der mit den Analyten (Abbildung 5) versetzten Serumproben mit der analytischen Methode zeigten sich keine Interferenzen durch andere Drogen wie Cannabinoide, Designerdrogen, Benzodiazepine, Psychopharmaka, Opiate und Amphetamine (2.3.1).

3.1.2 Analytische Grenzen

Die Ergebnisse zu den Grenzwerten der analytischen Methode (2.3.2) sind in Tabelle 8 gezeigt. Die höchste Nachweisgrenze (LOD, engl. *Limit of Detection*) lag bei 0,22 ng/ml für JWH-016. Der Analyt mit der geringsten LOD war JWH-019 (0,01 ng/ml); die zweitniedrigste LOD lag bei 0,02 ng/ml für AM-2201, JWH-007, JWH-200 und JWH-398. Die unteren Bestimmungsgrenzen (LLOQ*,* engl. *Lower Limit of Quantification*) befanden sich zwischen 0,04 ng/ml für AM-1172 und 0,34 ng/ml für JWH-122. Alle Analyten zeigten zwischen der jeweiligen LLOQ-Konzentration und 10 ng/ml eine lineare Abhängigkeit zwischen der Signalfläche und der Konzentration.

Tabelle 8: Grenzwerte der analytischen Methode LOD: Nachweisgrenze (engl. *Limit of Detection*)*,* LLOQ: untere Bestimmungsgrenze (engl. *Lower Limit of Quantification*), ULOQ: obere Bestimmungsgrenze (engl. *Upper Limit of Quantification*).

Analyt	LOD [ng/ml]	LLOQ-ULOQ [ng/ml]
AM-251	0,06	0,11-10,0
AM-1172	0,09	0,04-10,0
AM-1220	0,07	0,18-10,0
AM-2201	0,02	0,12-10,0
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	0,05	0,24-10,0
AM-2233	0,05	0,11-10,0
CB-25	0,06	0,16-10,0
CB-52	0,07	0,08-10,0
CB-86	0,06	0,12-10,0
JWH-007	0,02	0,09-10,0
JWH-011	0,04	0,19-10,0
JWH-015	0,03	0,19-10,0
JWH-016	0,22	0,33-10,0
JWH-018	0,10	0,18-10,0
JWH-019	0,01	0,10-10,0
JWH-020	0,09	0,31-10,0
JWH-030	0,04	0,25-10,0
JWH-073	0,11	0,25-10,0
JWH-081	0,10	0,24-10,0
JWH-098	0,04	0,10-10,0

Analyt	LOD [ng/ml]	LLOQ-ULOQ [ng/ml]
JWH-122	0,12	0,34-10,0
JWH-182	0,05	0,16-10,0
JWH-200	0,02	0,14-10,0
JWH-203	0,10	0,26-10,0
JWH-210	0,09	0,25-10,0
JWH-250	0,03	0,15-10,0
JWH-398	0,02	0,17-10,0
O-2545	0,06	0,23-10,0
RCS-4	0,08	0,15-10,0
RCS-4-C4 homolog	0,09	0,25-10,0
Rimonabant	0,03	0,15-10,0

3.1.3 Matrixeffekt und Wiederfindung

Die Ergebnisse zu Matrixeffekt und Wiederfindung der analytischen Methode, welche anhand von jeweils sechs Reinsubstanzlösungen, Extrakten sowie Matrixproben bei Konzentrationen von 1,0 ng/ml und 4,0 ng/ml ermittelt wurden (2.3.3), sind in Tabelle 9 gezeigt. Die Analyten AM-1172, CB-25, CB-52, CB-86 und O-2545 erfüllten bei der Bestimmung des Matrixeffekts und der Wiederfindung nicht die Validierungskriterien. Bei allen anderen Analyten lagen die Werte für den absoluten Matrixeffekt zwischen 86,0% und 119,8% bei einer Konzentration von 1,0 ng/ml und zwischen 64,7% und 97,4% bei einer Konzentration von 4,0 ng/ml. Unter Hinzunahme des internen Standards (ISTD) lag der Matrixeffekt zwischen 80,3% und 113,3% bei einer Konzentration von 1,0 ng/ml und zwischen 69,3% und 100,8% bei einer Konzentration von 4,0 ng/ml. Die Wiederfindung befand sich zwischen 33,7% und 50,7% bei einer Konzentration von 1,0 ng/ml und zwischen 40,3% und 51,4% bei einer Konzentration von 4,0 ng/ml. Durch Hinzunahme des ISTD lag die Wiederfindung zwischen 36,5% und 54,7% bei einer Konzentration von 1,0 ng/ml und zwischen 41,3% und 52,1% bei einer Konzentration von 4,0 ng/ml.

Tabelle 9: Matrixeffekt und Wiederfindung der analytischen Methode

Analyt	Level [ng/ml]	Matrix-effekt [%]	Matrixeffekt mit ISTD [%]	Wieder-findung [%]	Wiederfindung mit ISTD [%]
AM-251	1,0	110,0	102,7	36,7	39,4
	4,0	94,8	98,0	48,5	49,4
AM-1172	1,0	91,3	84,9	4,1	4,4
	4,0	77,0	79,9	3,1	3,1
AM-1220	1,0	106,9	99,4	45,3	48,6
	4,0	94,4	97,4	43,6	44,6
AM-2201	1,0	103,2	96,0	46,9	50,4
	4,0	89,0	92,0	46,2	46,9
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	1,0	103,2	96,0	46,9	50,4
	4,0	89,0	92,0	46,2	46,9
AM-2233	1,0	100,4	93,5	45,3	48,5
	4,0	91,5	94,6	40,3	41,3
CB-25	1,0	98,3	91,5	18,3	19,7
	4,0	88,3	91,4	21,6	21,9
CB-52	1,0	104,7	97,2	15,1	16,3
	4,0	91,5	94,5	16,7	16,9
CB-86	1,0	108,7	101,0	16,6	17,9
	4,0	92,2	95,3	20,5	20,8
JWH-007	1,0	108,0	100,3	43,1	46,3
	4,0	87,2	90,2	50,6	51,6
JWH-011	1,0	98,7	91,9	40,0	43,2
	4,0	78,5	81,3	45,2	46,1
JWH-015	1,0	106,2	98,6	49,7	53,4
	4,0	90,3	93,4	49,4	50,2
JWH-016	1,0	102,5	95,7	47,1	50,6
	4,0	85,2	88,2	50,2	51,0
JWH-018	1,0	119,8	113,3	37,4	40,0
	4,0	97,4	100,8	51,4	51,9
JWH-019	1,0	119,0	111,7	33,7	36,5
	4,0	86,7	89,5	45,9	47,1
JWH-020	1,0	92,0	85,4	38,7	41,8
	4,0	72,2	74,7	44,9	45,8

Analyt	Level [ng/ml]	Matrix-effekt [%]	Matrixeffekt mit ISTD [%]	Wieder-findung [%]	Wiederfindung mit ISTD [%]
JWH-030	1,0	106,0	98,7	50,6	54,4
	4,0	91,9	95,1	46,7	47,4
JWH-073	1,0	114,4	106,0	47,1	50,5
	4,0	90,9	93,9	51,0	52,0
JWH-081	1,0	103,1	92,3	39,9	43,3
	4,0	88,6	96,1	49,5	51,9
JWH-098	1,0	110,4	102,4	39,3	42,3
	4,0	89,6	92,6	50,4	51,4
JWH-122	1,0	108,9	100,7	42,3	45,4
	4,0	88,1	91,1	51,0	51,9
JWH-182	1,0	118,4	109,4	37,0	39,8
	4,0	87,4	90,2	48,1	49,0
JWH-200	1,0	104,5	105,7	42,1	51,5
	4,0	94,8	94,8	47,3	52,1
JWH-203	1,0	103,8	97,3	48,4	45,4
	4,0	84,9	97,9	50,6	48,3
JWH-210	1,0	86,0	96,6	37,5	51,8
	4,0	64,7	88,0	42,5	51,5
JWH-250	1,0	112,8	80,3	48,1	40,3
	4,0	91,8	69,3	51,2	41,5
JWH-398	1,0	96,8	89,7	39,2	42,3
	4,0	74,9	77,5	45,7	46,6
O-2545	1,0	109,7	101,4	23,2	24,8
	4,0	91,7	94,6	31,6	32,2
RCS-4	1,0	96,3	89,8	50,7	54,7
	4,0	87,6	90,5	47,1	48,0
RCS-4-C4	1,0	108,4	100,6	49,6	53,4
homolog	4,0	91,2	94,2	50,7	51,7
Rimonabant	1,0	112,4	104,7	41,3	44,4
	4,0	93,6	96,8	49,7	50,7

Zur relativen Betrachtung der Werte von Matrixeffekt und Wiederfindung dienten die Variationskoeffizienten aus den je sechs Reinsubstanzlösungen, Extrakten und Matrixproben (Tabelle 10). Der Variationskoeffizient lag bei den Reinsubstanzlösungen

zwischen 9,0% und 21,2% für 1,0 ng/ml und zwischen 2,1% und 18,9% für 4,0 ng/ml, bei den Extrakten zwischen 10,2% und 26,6% bei 1,0 ng/ml und zwischen 13,2% und 35,9% bei 4,0 ng/ml sowie bei den Matrixproben zwischen 5,1% und 20,2% bei 1,0 ng/ml und zwischen 2,7% und 13,7% bei 4,0 ng/ml.

Tabelle 10: Variationskoeffizienten der Reinsubstanzlösungen, Extrakte und Matrixproben
Der Variationskoeffizient (CV) entspricht dem Quotienten aus der Standardabweichung und dem Mittelwert der absoluten Peakflächen.

Analyt	Level [ng/ml]	Reinsubstanzlösung [%]	Extrakt [%]	Matrixprobe [%]
AM-251	1,0	12,7	14,3	11,5%
	4,0	4,7	17,0	3,4%
AM-1172	1,0	21,2	26,6	12,7%
	4,0	2,1	35,9	9,4%
AM-1220	1,0	14,8	21,6	9,2%
	4,0	4,5	15,1	3,0%
AM-2201	1,0	13,9	12,8	14,1%
	4,0	2,9	21,3	5,6%
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	1,0	13,9	12,8	14,1%
	4,0	2,9	21,3	5,6%
AM-2233	1,0	13,4	21,5	7,5%
	4,0	2,9	13,9	2,7%
CB-25	1,0	14,9	20,1	13,4%
	4,0	3,7	27,2	7,6%
CB-52	1,0	14,6	25,3	7,1%
	4,0	3,6	24,2	3,1%
CB-86	1,0	14,7	22,3	8,4%
	4,0	2,6	23,9	3,7%
JWH-007	1,0	16,0	13,4	6,3%
	4,0	2,4	15,0	4,3
JWH-011	1,0	18,3	13,4	12,5
	4,0	4,0	15,0	8,6
JWH-015	1,0	15,7	12,0	10,8
	4,0	2,3	18,2	5,3
JWH-016	1,0	15,3	16,0	13,3
	4,0	3,1	17,5	9,1
JWH-018	1,0	9,0	12,5	11,9

Analyt	Level [ng/ml]	Reinsubstanzlösung [%]	Extrakt [%]	Matrixprobe [%]
	4,0	18,9	27,0	5,5
JWH-019	1,0	21,0	18,6	20,2
	4,0	14,4	19,9	13,7
JWH-020	1,0	18,8	15,7	6,4
	4,0	2,9	14,2	7,9
JWH-030	1,0	14,9	13,6	13,8
	4,0	2,7	21,8	5,6
JWH-073	1,0	15,5	15,0	9,3
	4,0	2,8	14,7	4,9
JWH-081	1,0	16,0	18,6	9,9
	4,0	3,1	16,1	4,2
JWH-098	1,0	16,1	13,0	6,8
	4,0	2,6	16,0	3,4
JWH-122	1,0	17,0	14,5	5,1
	4,0	3,7	14,5	4,1
JWH-182	1,0	19,5	14,3	7,1
	4,0	3,9	13,2	3,5
JWH-200	1,0	11,9	14,0	8,9
	4,0	2,6	15,4	3,5
JWH-203	1,0	15,4	15,5	7,8
	4,0	2,1	16,3	6,0
JWH-210	1,0	21,0	15,4	13,6
	4,0	2,5	17,5	11,9
JWH-250	1,0	13,2	13,4	7,5
	4,0	3,5	16,2	5,0
JWH-398	1,0	18,6	12,1	7,0
	4,0	2,5	16,0	6,7
O-2545	1,0	15,9	22,0	6,3
	4,0	4,8	22,0	4,7
RCS-4	1,0	15,5	10,2	15,7
	4,0	3,2	20,0	5,9
RCS-4-C4	1,0	15,7	11,2	9,8
homolog	4,0	3,3	15,8	2,9
Rimonabant	1,0	13,6	14,4	10,0
	4,0	3,1	14,4	4,4

3.1.4 Stabilität

Die Ergebnisse zur Stabilität der Analyten in den Extrakten (2.3.4) sind in Tabelle 11 gezeigt. Die ermittelten Stabilitäten lagen für alle Analyten mit Ausnahme von AM-1172 zwischen 84,8% bis 106,2% bei 1,0 ng/ml und zwischen 86,6% bis 104,8% bei 3,0 ng/ml. AM-1172 zeigte eine Abnahme der Peakflächen auf 73,7% bei 1,0 ng/ml und 80,3% bei 3,0 ng/ml.

Tabelle 11: Stabilität der Analyten in den Extrakten Das Verhältnis der absoluten Peakflächen aus den Analysen zu denen aus der ersten Analyse wurde bestimmt.

Analyt	Level [ng/ml]	Extrakt Stabilität [%]
AM-251	1,0	85,1
	3,0	87,7
AM-1172	1,0	73,7
	3,0	80,3
AM-1220	1,0	94,6
	3,0	101,4
AM-2201	1,0	91,7
	3,0	97,6
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	1,0	91,7
	3,0	97,6
AM-2233	1,0	90,3
	3,0	99,5
CB-25	1,0	86,5
	3,0	100,3
CB-52	1,0	91,0
	3,0	89,7
CB-86	1,0	92,2
	3,0	93,7
JWH-007	1,0	93,5
	3,0	96,2
JWH-011	1,0	85,0
	3,0	91,5
JWH-015	1,0	92,6
	3,0	95,6

Analyt	Level [ng/ml]	Extrakt Stabilität [%]
JWH-016	1,0	91,7
	3,0	95,7
JWH-018	1,0	93,5
	3,0	94,2
JWH-019	1,0	94,4
	3,0	92,8
JWH-020	1,0	84,8
	3,0	89,0
JWH-030	1,0	97,1
	3,0	100,0
JWH-073	1,0	99,0
	3,0	97,1
JWH-081	1,0	97,4
	3,0	87,6
JWH-098	1,0	89,7
	3,0	91,9
JWH-122	1,0	90,7
	3,0	86,8
JWH-182	1,0	85,5
	3,0	90,0
JWH-200	1,0	87,5
	3,0	104,8
JWH-203	1,0	106,2
	3,0	98,7
JWH-210	1,0	101,5
	3,0	86,6
JWH-250	1,0	99,0
	3,0	99,1
JWH-398	1,0	90,0
	3,0	94,4
O-2545	1,0	89,0
	3,0	93,4
RCS-4	1,0	92,7
	3,0	95,2

Analyt	Level [ng/ml]	Extrakt Stabilität [%]
RCS-4-C4 homolog	1,0	93,7
	3,0	100,9
Rimonabant	1,0	86,9
	3,0	92,0

3.1.5 Genauigkeit

Die Ergebnisse zur Genauigkeit der analytischen Methode (2.3.5) sind in Tabelle 12 aufgeführt. Mit Ausnahme der Analyten AM-1172, CB-25, CB-52, CB-86 und O-2545 ergab sich für alle anderen Analyten bei 0,5 ng/ml ein Bias von -11,8% bis 3,1% sowie eine Wiederholpräzision von 5,4% bis 12,5% und eine Laborpräzision von 8,4% bis 15,0%. Bei 1,0 ng/ml lag der Bias zwischen -3,8% und 4,8%, die Wiederholpräzision zwischen 2,7% und 9,9% sowie die Laborpräzision zwischen 7,1% und 12,8%. Für die höhere Konzentration von 2,0 ng/ml lag der Bias zwischen -6,1% und 4,2%, die Wiederholpräzision zwischen 5,1% und 15,0% und die Laborpräzision zwischen 5,3% und 15,0%.

Tabelle 12: Genauigkeit der analytischen Methode

Analyt	Konzentration [ng/ml]	Bias [%]	Wiederholpräzision [%]	Laborpräzision [%]
AM-251	0,5	-6,7	8,66	10,86
	1,0	-0,1	8,50	11,99
	2,0	0,0	9,66	10,93
AM-1172	0,5	-28,1	23,71	35,51
	1,0	-19,1	7,20	23,18
	2,0	-0,5	18,26	19,05
AM-1220	0,5	-0,6	6,28	13,51
	1,0	-2,8	6,00	9,85
	2,0	1,9	9,36	9,36
AM-2201	0,5	-2,5	10,03	14,73
	1,0	1,2	4,10	10,92
	2,0	-2,7	8,83	11,52

Analyt	Konzentration [ng/ml]	Bias [%]	Wiederholpräzision [%]	Laborpräzision [%]
AM-2201 N-(4-Fluoropentyl)-isomer	0,5	-2,5	10,03	14,73
	1,0	1,2	4,10	10,92
	2,0	-2,7	8,83	11,52
AM-2233	0,5	1,0	8,98	13,05
	1,0	1,5	4,90	9,63
	2,0	2,7	7,70	7,70
CB-25	0,5	-19,5	12,54	23,18
	1,0	-12,7	12,68	22,08
	2,0	1,1	9,63	12,50
CB-52	0,5	-21,2	16,31	30,98
	1,0	-7,4	15,50	28,26
	2,0	18,6	9,89	22,20
CB-86	0,5	-16,2	15,85	18,96
	1,0	-3,5	6,50	13,64
	2,0	11,1	9,29	12,97
JWH-007	0,5	-1,7	7,93	11,23
	1,0	4,8	3,20	7,65
	2,0	2,6	6,69	7,33
JWH-011	0,5	-11,7	7,86	8,56
	1,0	4,2	4,20	7,41
	2,0	1,8	7,90	7,90
JWH-015	0,5	1,9	10,07	13,97
	1,0	-1,3	9,40	11,43
	2,0	-2,7	6,59	8,03
JWH-016	0,5	-0,3	11,04	14,87
	1,0	3,4	2,70	8,37
	2,0	-0,3	7,54	7,77
JWH-018	0,5	-3,3	5,84	13,43
	1,0	-3,5	6,50	8,91
	2,0	1,7	14,59	14,59
JWH-019	0,5	-3,3	8,57	10,16
	1,0	-3,2	9,20	9,94
	2,0	-1,8	9,43	9,43

Analyt	Konzentration [ng/ml]	Bias [%]	Wiederholpräzision [%]	Laborpräzision [%]
JWH-020	0,5	-8,5	11,29	11,46
	1,0	3,8	4,90	8,33
	2,0	2,8	7,77	7,77
JWH-030	0,5	-2,8	9,28	14,53
	1,0	-0,9	4,60	11,01
	2,0	-2,8	9,41	11,94
JWH-073	0,5	-1,3	5,35	11,53
	1,0	4,1	5,00	8,55
	2,0	-1,5	5,68	10,02
JWH-081	0,5	-6,5	12,49	12,49
	1,0	-3,8	5,40	9,48
	2,0	0,0	7,13	7,85
JWH-098	0,5	-3,6	7,22	8,37
	1,0	2,6	3,30	7,06
	2,0	3,1	5,13	5,27
JWH-122	0,5	3,1	8,48	11,24
	1,0	2,2	5,30	9,06
	2,0	1,7	8,56	8,56
JWH-182	0,5	-11,8	11,57	11,57
	1,0	-0,6	7,20	11,73
	2,0	3,8	7,85	7,96
JWH-200	0,5	-2,4	7,42	11,22
	1,0	2,8	6,70	8,51
	2,0	4,2	5,96	6,33
JWH-203	0,5	0,3	11,24	12,73
	1,0	0,1	6,90	12,03
	2,0	-2,9	7,75	8,14
JWH-210	0,5	-4,3	8,03	10,90
	1,0	1,3	9,90	11,21
	2,0	-6,1	14,95	14,95
JWH-250	0,5	-0,6	6,80	13,44
	1,0	0,0	9,60	12,15
	2,0	-2,6	5,17	8,26

Analyt	Konzentration [ng/ml]	Bias [%]	Wiederholpräzision [%]	Laborpräzision [%]
JWH-398	0,5	-8,1	9,48	10,25
	1,0	1,9	3,80	9,87
	2,0	-0,2	9,47	9,65
O-2545	0,5	-4,7	18,27	28,85
	1,0	6,5	11,02	33,49
	2,0	15,9	22,07	41,82
RCS-4	0,5	-0,7	11,24	13,54
	1,0	-0,5	6,90	9,11
	2,0	-3,6	8,17	10,21
RCS-4-C4 homolog	0,5	-0,9	5,45	14,97
	1,0	2,9	4,40	12,80
	2,0	-4,4	8,97	14,26
Rimonabant	0,5	-9,7	5,45	9,16
	1,0	-3,2	5,10	8,32
	2,0	-1,8	10,57	14,07

3.2 Prävalenz synthetischer Cannabinoide bei Verkehrsdelikten

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine retrospektive Analyse von Blutproben aus Verkehrs- und Kriminaldelikten aus dem Jahr 2010 in Hessen anhand einer Stichprobe aus 422 Blutproben (20% aller Blutproben des Jahres 2010) durchgeführt. Darunter waren 12 Blutproben positiv für SC (Tabelle 13), wodurch sich eine Prävalenz für SC von 2,8% ergibt.

Die Ergebnisse der Probenanalyse sind in Tabelle 13 gezeigt. In den untersuchten Blutproben waren sechs von 31 gesuchten SC enthalten: JWH-015, JWH-016, JWH-018, JWH-122, JWH-210 und JWH-250. Dabei war JWH-122 in acht von 12 Fällen enthalten und damit am häufigsten nachweisbar. Insgesamt enthielten die 12 positiv getesteten Blutproben 17 SC, wobei in drei Fällen mehr als ein SC detektiert wurde (Fall #2, #5, #8 Tabelle 13). Die Konzentrationen der SC in den Blutproben variierten zwischen Werten unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenzen und 9,53 ng/ml. Zusätzlich lag in einem Fall die Konzentration des SC JWH-122 mit circa 73 ng/ml vergleichsweise hoch. Bei mehr als der Hälfte aller detektierten SC lag die

Konzentration unter 1 ng/ml; bei 75% der nachgewiesenen SC unter 3 ng/ml. Alle positiv getesteten Proben wurden durch eine wiederholte Messung bestätigt.
Die Ergebnisse der Durchsicht von polizeilichen und ärztlichen Dokumenten komplettieren die Ergebnisse der toxikologischen Analyse von Blutproben aus dem Jahr 2010. Alle 12 identifizierten Konsumenten von SC waren männlich. In 11 Fällen waren die Konsumenten Verdächtige von Verkehrsdelikten; das Alter der Konsumenten lag zwischen 18 und 38 Jahren (median 22 Jahre). In einem weiteren Fall wurde ein 46 Jahre alter Mann eines Kriminaldelikts beschuldigt (Fall #3 Tabelle 13). Die von ihm stammende Blutprobe enthielt sowohl SC (JWH-015), als auch Blutalkohol.
In einem Fall (Fall #7 in Tabelle 13) deutete der polizeiliche Bericht auf eine Intoxikation hin. Demzufolge hatte der Konsument den ganzen Tag paranoide Wahnvorstellungen, die sich nach dem Konsum von SC verschlimmert hätten. Aus den Messungen ergab sich in der Blutprobe eine Konzentration des SC JWH-122 geringer als 0,34 ng/ml.

Die zur Trendabschätzung durchgeführte Analyse einer Stichprobe aus Blutproben des Jahres 2013, die bei Verkehrskontrollen während eines Festivals in Deutschland zur Untersuchung auf Drogen und Medikamente entnommen wurden, lieferte keine positiven Ergebnisse auf SC.
Aus der digitalen Datenbank des Instituts für Rechtsmedizin Frankfurt am Main ging hervor, dass mit der hier entwickelten Methode SC im Jahr 2012 bei 11,1% aus 153 Blutproben und im Jahr 2013 bei 3,1% aus 96 Blutproben nachweisbar waren.

Tabelle 13: **Daten der positiven Fälle** Konzentrationen SC aus 422 analysierten Serumproben (20% aller Proben des Jahres 2010) und weitere toxikologische Ergebnisse. THC = Δ9-Tetrahydrocannabinol; THC-COOH = 11-nor-9-Carboxy-THC; BAK = Blutalkoholkonzentration (in [g/l] Vollblut)

	JWH-015 [ng/ml]	JWH-016 [ng/ml]	JWH-018 [ng/ml]	JWH-122 [ng/ml]	JWH-210 [ng/ml]	JWH-250 [ng/ml]	THC [ng/ml]	THC-COOH [ng/ml]	BAK [g/l]	Andere [mg/l]	Alter [Jahre]	Beobachtungen
1				73,05[1]							24	Leise Stimme, apathisch, Tests wurden verweigert
2				9,53		0,91					19	Geweitete Pupillen mit verzögerter Lichtreaktion und Reboundeffekt, Augenlidzucken, Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest und im Rombergtest, Veränderung im Zeitempfinden
3	<0,19[2]								0,87		46	Keine Unauffälligkeiten, Tests wurden verweigert

	JWH-015 [ng/ml]	JWH-016 [ng/ml]	JWH-018 [ng/ml]	JWH-122 [ng/ml]	JWH-210 [ng/ml]	JWH-250 [ng/ml]	THC [ng/ml]	THC-COOH [ng/ml]	BAK [g/l]	Andere [mg/l]	Alter [Jahre]	Beobachtungen
4						0,21	1,9	24			18	Agitiertheit, geweitete Pupillen, Augenlidzucken, Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest, leichter Tremor in den Knien, launisch
5	<0,19[2]		0,76	1,3		2,94	1,2	18			25	Verengte bis normale Pupillen mit leicht verzögerter Lichtreaktion, Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest
6				<0,34[2]				9,7			21	Geweitete Pupillen mit verzögerter Lichtreaktion, leichtes Augenlidzucken, glänzende Augen, Tremor, Beeinträchtigung im Rombergtest

	JWH-015 [ng/ml]	JWH-016 [ng/ml]	JWH-018 [ng/ml]	JWH-122 [ng/ml]	JWH-210 [ng/ml]	JWH-250 [ng/ml]	THC [ng/ml]	THC-COOH [ng/ml]	BAK [g/l]	Andere [mg/l]	Alter [Jahre]	Beobachtungen
7				<0,34[2]			2,5	43			24	Agitiertheit, geweitete Pupillen mit verzögerter Lichtreaktion, vertikaler Nystagmus, Augenlidzucken, glänzende Augen, gerötete Konjunktiven, unsicherer Gang, Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest und im Rombergtest, Paranoia und Wahnvorstellungen

	JWH-015 [ng/ml]	JWH-016 [ng/ml]	JWH-018 [ng/ml]	JWH-122 [ng/ml]	JWH-210 [ng/ml]	JWH-250 [ng/ml]	THC [ng/ml]	THC-COOH [ng/ml]	BAK [g/l]	Andere [mg/l]	Alter [Jahre]	Beobachtungen
8				0,44	1,06					Amphetamin 0,024	20	Geweitete Pupillen mit verzögerter Lichtreaktion und Reboundeffekt, deutliches Augenlidzucken, horizontaler Blicknystagmus, glänzende Augen, Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest und Rombergtest, instabiler Einbeinstand
9				0,35					1,13	Amphetamin 0,024	19	Geweitete Pupillen, unscheinbare Stimmung
10				1,91			8,5	105		Morphin 0,005	20	Agitiertheit, verengte Pupillen ohne Lichtreaktion, Augenlidzucken, glänzende Augen, Kieferklemme

	JWH-015 [ng/ml]	JWH-016 [ng/ml]	JWH-018 [ng/ml]	JWH-122 [ng/ml]	JWH-210 [ng/ml]	JWH-250 [ng/ml]	THC [ng/ml]	THC-COOH [ng/ml]	BAK [g/l]	Andere [mg/l]	Alter [Jahre]	Beobachtungen
11		<0,33[2]							1,93	Kokain 0,06; Benzoylekgonin 0,19; Methadon 0,13; Diazepam 0,95; Nordiazepam 2,35	36	Gerötete Konjunktiven, Pupillen normal, Postrotationsnystagmus (6 sek.), instabiler Gang, Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest und Finger-zu-Nasetest, verlangsamte/verzögerte Reaktion, wirre Gedanken, konfuse Sätze, undeutliches Sprechen
12						2,88			0,63	Tramadol 1,05; Bromazepam 1,22	38	Geweitete Pupillen, Postrotationsnystagmus (10 sek.), Beeinträchtigung im Finger-zu-Fingertest und Finger-zu-Nasetest, depressive Stimmung

[1]Konzentration lag über der Kalibrationskurve und wurde extrapoliert. [2]Konzentration lag unter der Nachweisgrenze, war jedoch eindeutig nachweisbar.

3.3 Konsummuster und Ausfallserscheinungen

Zur Auswertung von Konsummustern wurden zeitnah nach der Blutentnahme durchgeführte toxikologische Untersuchungen herangezogen. Zwei von 12 Konsumenten hatten ausschließlich SC konsumiert (16,6%), da keine anderen Substanzen nachweisbar waren. In vier Fällen lag eine Kombination aus Konsum von SC mit Cannabiskonsum vor (33,3%; Fall #4, #5, #7, #10 Tabelle 13). Der Gebrauch weiterer psychoaktiver Substanzen wie Amphetamin, Alkohol, Morphin, Methadon, Kokain oder Diazepam zeigte sich in sechs Fällen (Fall #3, #8, #9, #10, #11, #12 Tabelle 13). Darunter war ein Fall mit deutlichem Tramadol- und Bromazepammissbrauch in Kombination mit Alkohol (Fall #12 Tabelle 13).

Aus der Durchsicht der in den im Institut für Rechtsmedizin Frankfurt am Main vorliegenden Fallakten enthaltenen polizeilichen und ärztlichen Dokumente gingen vor allem moderate Ausfallserscheinungen hervor (Tabelle 13). Diese waren Sedierung (#1, #11, #12), Agitiertheit (#4, #7, #10), Veränderungen im Zeitempfinden (#2), Paranoia (#7), Stand- und Gangunsicherheit (#2, #6, #7, #8, #11), Ataxie (#2, #4, #5, #7, #8, #11, #12), Beeinträchtigung der Pupillenfunktion (alle bis auf #1, #3, #11), Augenlidzucken (#2, #4, #6, #7, #8, #10), Postrotationsnystagmus (# 11, #12) und vertikaler oder horizontaler Blicknystagmus (#7, #8). In den Fällen #2, #5, #6, #7 und #12 gaben die Konsumenten regelmäßigen Drogenkonsum an.

4 DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit war die repräsentative Bestimmung der Prävalenz von SC unter Fällen von Verkehrs- und Kriminaldelikten in Hessen im Jahr 2010 durch die Erfassung aller bis dato im Umlauf befindlicher SC und die Reanalyse einer systematischen Stichprobe, um die Häufigkeit unentdeckten SC Konsums in forensischen Fällen zu beurteilen. Hierfür wurde eine analytische Methode zum Nachweis von SC in humanem Blutserum entwickelt, validiert und der analytischen Methode von Kneisel et al. gegenübergestellt. [204] In positiven Fällen gaben Institutsunterlagen sowie ärztliche und polizeiliche Dokumente Aufschluss über Konsummuster und Ausfallserscheinungen. Die Auswertung der authentischen Proben wurde mit vergleichbaren Untersuchungen zur Prävalenz, Konsummustern und Ausfallserscheinungen verglichen.

4.1 Analytische Methode

Die verwendete analytische Methode zur Untersuchung von Blutproben auf SC entspricht mit leichten Modifikationen der analytischen Methode von Kneisel et al. [204] und bestand aus einer flüssig-flüssig Extraktion von 0,2 ml Serum sowie anschließender LC-MSMS Analyse mit positiver Elektrosprayionisation und mindestens zwei MRM Übergängen für jeden Analyten.

Unter den 31 SC (Abbildung 5), welche mit Hilfe der Methode detektiert werden sollten, waren vier Paare Konstitutionsisomere: AM-2201 und AM-2201 N-4-Fluoropentylisomer ($C_{24}H_{22}FNO$), JWH-016 und JWH-018 ($C_{24}H_{23}NO$), JWH-015 und JWH-073 ($C_{23}H_{21}NO$) sowie JWH-007 und JWH-019 ($C_{25}H_{25}NO$). Konstitutionsisomere lassen sich aufgrund der identischen Masse und des unterschiedlichen strukturellen Aufbaus nur anhand verschiedener Retentionszeiten im Chromatographen oder durch die Verwendung zusätzlicher, empirisch bestimmter Qualifier im Massenspektrometer voneinander unterscheiden, welche durch das erneute Brechen verschiedener, kleinerer Fragmente entstehen. Da AM-2201 und sein N-(4-Fluoropentyl)-isomer die gleichen Retentionszeiten und dominierenden Qualifier haben, wurde ein zusätzlicher Qualifier zur Differenzierung eingesetzt (siehe Tabelle 6). Alle

anderen Konstitutionsisomere wurden chromatographisch aufgetrennt und lieferten diskrete Peaks. Wenn Konstitutionsisomere nicht eindeutig voneinander zu trennen sind, so können die Validierungskriterien nicht für beide Analyten bestimmt werden. Mit der verwendeten analytischen Methode konnten jedoch alle 31 SC eindeutig voneinander differenziert werden. Für die Anwendung der analytischen Methode auf das Probenkollektiv bedeutete dies, dass die Existenz weiterer SC in den Blutproben, die in Masse, Retentionszeit und Qualifiern mit einem der hier analysierten Analyten übereinstimmen, nicht auszuschließen war. Mittels der angewendeten analytischen Methode konnten jedoch gemäß vertraulicher Informationen des Bundeskriminalamts alle bis 2011 auf dem deutschen Drogenmarkt in Kräutermischungen nachgewiesenen SC differenziert detektiert werden, wodurch eine Verwechslung der SC unwahrscheinlich ist (2.4). Unabhängig von der Einschränkung in der Qualität konnte mit der analytischen Methode der Nachweis eines SC Konsums erbracht werden, um so die Frage nach der Prävalenz hinreichend zu beantworten.

Die analytische Methode wurde im Vorfeld anhand der Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen hinsichtlich Richtigkeit und Präzision [219] validiert. Die Ergebnisse der Validierung deckten sich überwiegend mit Kneisel et al., wobei die wesentlichen Unterschiede zu der hier verwendeten Extraktion (vgl. 2.2.1) in der Verwendung des Extraktionsmittels n-Hexan-Ethylacetat (99:1 V/V), dem Carbonatpuffer (pH 10) sowie der zum erneuten in Lösung bringen der Analyten für die Analyse verwendeten mobilen Phase bestehend aus Ameisensäure, Ammoniumformiat und Methanol waren. [204]

Zunächst wurden Spezifität und Selektivität der analytischen Methode überprüft. Die Spezifität einer Methode liegt vor, wenn der gemessene Analyt eindeutig nachweisbar ist, ohne dass endogene Komponenten das Messergebnis beeinflussen. Für die hier verwendete Methode ist dies gegeben, da die Analyse der Leerproben keine falsch-positiven Signale ergab. Ist eine Methode selektiv, so können mehrere Analyten in einer Probe diskret voneinander detektiert werden. Dies zeigte die Analyse von Standardlösungen zur Validierung, welche mit allen 31 untersuchten Analyten versetzt wurden. Die Analyten waren mit der angewendeten Methode anhand von unterschiedlichen Retentionszeiten oder Qualifiern selektiv nachweisbar. Zusätzlich zeigte sich kein Einfluss anderer Drogen und Medikamente wie Cannabinoide,

Designerdrogen, Benzodiazepine, Psychopharmaka, Opiate und Amphetamine auf die Detektion der 31 untersuchten Analyten (3.1.1).

Alle untersuchten Analyten waren trotz niedriger Extraktionsausbeuten nach DIN 32645 [220] sensitiv nachweisbar. Dabei zeigte sich für JWH-016 die höchste Nachweisgrenze von 0,22 ng/ml; die Nachweisgrenzen aller anderen Analyten lagen darunter. Zwischen den Bestimmungsgrenzen der jeweiligen Analyten und 10 ng/ml zeigte sich eine lineare Abhängigkeit zwischen der Signalfläche und der Konzentration. Die Arbeit von Kneisel et al. ergab vergleichbare Werte für die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der SC. [204] Damit ist die hier entwickelte Methode ausreichend empfindlich, um die bislang publizierten, typischen Konzentrationen von SC, aber auch länger zurückliegenden Konsum nachzuweisen. [204] Bei chronischem Konsum von SC ist der Nachweis in Serumproben bis zu einer Woche, der positive Nachweis von Metaboliten in Urinproben bis zu einigen Monaten möglich. [72]

Bei der Überprüfung des Matrixeffekts, welcher sich aus dem Verhältnis von Reinsubstanz zu Matrixproben ergibt (vgl. 2.3.3), zeigten sich geringe Konzentrationsunterschiede (vgl. 3.1.3), was geringe Interferenzen durch die Matrix wie hier das Serum verdeutlicht. Die Wiederfindung hingegen bestimmt Verluste der Analyten bei der Extraktion aus der Matrix und ist gegeben als Quotient der Konzentrationen des Extrakts und der Matrixprobe (vgl. 2.3.3). Bei der Überprüfung der Wiederfindung zeigten die Analyten AM-1172, CB-25, CB-52, CB-86 und O-2545 deutliche Konzentrationsverluste bei der Probenaufarbeitung. Alle anderen Analyten hatten nach den Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen [219] überwiegend ausreichende Wiederfindungsraten (vgl. 3.1.3).

Die Variationskoeffizienten lagen bei den Reinsubstanzlösungen zwischen 9,0% und 21,2% für 1,0 ng/ml und zwischen 2,1% und 18,9% für 4,0 ng/ml, bei den Matrixproben zwischen 5,1% und 20,2% bei 1,0 ng/ml und zwischen 2,7% und 13,7% bei 4,0 ng/ml sowie bei den Extrakten zwischen 10,2% und 26,6% bei 1,0 ng/ml und zwischen 13,2% und 35,9% bei 4,0 ng/ml und waren damit moderat bis erhöht. Durch Hinzunahme der ISTDs für die Berechnung verbesserten sich die Werte für die Matrixeffekte und die Wiederfindung überwiegend (vgl. 3.1.3).

Kneisel et al. demonstrierten deutliche Matrixeffekte, wobei bei hydrophilen Aminoalkylindolen wie beispielsweise JWH-200, AM-1220 und AM-2233 eine

Ionenverstärkung sowie bei sehr lipophilen Analyten wie JWH-210 und JWH-398 eine Ionensuppression beobachtet wurde. [204] Die Ergebnisse der vorliegenden Analysen konnten die Ionenverstärkung bei hydrophilen Substanzen nicht eindeutig bestätigen. Die von Kneisel et al. beschriebene Ionensuppression von JWH-210 und JWH-398 zeigte sich hingegen auch in der vorliegenden Arbeit. Die Wiederfindung lag bei Kneisel et al. zwischen 56% und 5,7% und damit in einem ähnlichen Bereich wie in der vorliegenden Arbeit (vgl. Tabelle 9). [204]

Für die Bestimmung der Stabilität wurden die präparierten Proben auf dem *autosampler* (engl. für Probengeber) bei 20°C gelagert und an vier nacheinander folgenden Tagen analysiert. Die Konzentrationen variierten mit Ausnahme von AM-1172 von 84,8% bis 106,2% bei 1,0 ng/ml und zwischen 86,6% bis 104,8% bei 3,0 ng/ml. AM-1172 zeigte eine Abnahme der Konzentration um mehr als 15% und gilt damit nach der Definition der Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen [219] nicht als stabil. Bei Kneisel et al. variierte die Wiederfindung für die Stabilität über 9 Stunden von 91 bis 103%, wobei AM-1172 nicht untersucht wurde. [204] Vermeintliche Zunahmen der Konzentrationen sind durch Messungenauigkeiten erklärbar. Da in der vorliegenden Arbeit die Messabstände teilweise mehr als einen Tag betrugen und die Untersuchung von Substanzverlusten über die Zeit untersucht wurde, wurden nur vier statt sechs Messungen durchgeführt. Die Einfrier- und Auftaustabilität wurde von Kneisel et al. untersucht und ist gegeben; die Wiederfindung für die Einfrier- und Auftaustabilität variierten von 94 bis 111%. [204]

Die verwendete analytische Methode konnte zur qualitativen Bestimmung von SC angewendet werden. Hinsichtlich der Genauigkeit der analytischen Methode zeigte sich hingegen optimierungsbedarf. Die mangelnde Reproduzierbarkeit der Konzentrationen ist durch den Einsatz von nur zwei verschiedenen ISTDs, JWH-081 d_5 und JWH-200 d_9, und der großen strukturellen Varianz der untersuchten Analyten erklärbar. Jedem Analyten wird im Vorfeld ein ISTD zugeordnet, welcher Extraktionsverluste ausgleichen soll. Hier konnte nicht allen Analyten ein strukturähnlicher ISTD zugeordnet werden (vgl. Abbildung 5 und Abbildung 6). Daraus können unterschiedliche Effizienzen bei der Extraktion der Analyten im Vergleich zu den jeweiligen ISTDs resultieren, da sich die Substanzen bei der Extraktion möglicherweise anders verhalten und dadurch leichter oder stärker Verluste auftreten. Um die

Genauigkeit der analytischen Methode zu verbessern, ist die Verwendung deuterierter ISTDs für jeden Analyten am geeignetsten. Aus Kostengründen empfiehlt sich jedoch der Einsatz von einem ISTD für mehrere strukturverwandte Substanzen. Kneisel et al. haben bei der Untersuchung von 30 SC neun verschiedene deuterierte ISTDs verwendet. [204] Alle Analyten mit ausreichender Linearität erfüllten die Kriterien für die Genauigkeit. [204]

Die hier validierte analytische Methode ist trotz der eingeschränkten Quantifizierbarkeit für die qualitative Untersuchung von Blutproben auf SC geeignet, da in dieser Arbeit die Prävalenz und nicht die Konsummengen im Fokus standen. Ferner ist die analytische Methode sehr sensitiv, da neben den geringen Nachweisgrenzen Konzentrationen von SC unterhalb der Nachweisgrenzen mit einem Signal/Rauschverhältnis von mindestens 3:1 nachweisbar waren (8.1).

4.2 Auswertung authentischer Proben

Für die Untersuchung der Prävalenz von SC unter forensischen Fällen aus Verkehrs- und Kriminaldelikten des Jahres 2010, die zur Untersuchung auf Drogen und Medikamente an das Institut für Rechtsmedizin Frankfurt am Main eingesandt wurden, wurde eine Auswahl bestehend aus 20% aller Blutproben nachanalysiert. Aus 2201 Blutproben wurde systematische jede fünfte Blutprobe (n=422) auf SC untersucht. Da die Analysemethode zeitaufwändig ist und Routineanalysen ebenfalls aufgearbeitet und von der LC-MSMS analysiert werden mussten, konnte die vorliegende Untersuchung nicht alle 2201 Blutproben umfassen. Dennoch ist die Stichprobe repräsentativ, da sie auf einer systematischen Zufallsstichprobe basiert und die Vergabe der Nummern zur Anonymisierung nicht willkürlich, sondern chronologisch erfolgte. Weiter lagen in den bislang durchgeführten, auf Probenanalysen basierten Studien zur Prävalenz vergleichbare bis geringere Anzahlen untersuchter Proben vor; beispielsweise wurden 155 Proben von US Soldaten analysiert. [182] In einer Studie aus Norwegen hingegen wurden 726 Blutproben von Fahrern über einen Zeitraum von 7 Wochen gesammelt und untersucht, wodurch sich die Prävalenz zu diesem Zeitraum präzise bestimmen lies. [183] Da jedoch die Proben aus dem ganzen Land stammten, sind regionale Unterschiede, und dabei insbesondere Unterschiede zwischen der Prävalenz von SC auf dem Land und in der Stadt, nicht berücksichtigt. Die in dieser Arbeit untersuchten Blutproben stammten

alle aus Frankfurt am Main und Umgebung und repräsentieren das gesamte Jahr 2010. Eine monatsgenaue Prävalenz wurde hierbei aufgrund geringer Konsumhäufigkeit nicht berücksichtigt.

4.2.1 Prävalenz

In der vorliegenden Arbeit waren 12 von 422 untersuchten Blutproben positiv für SC, was einer Prävalenz von 2,8% für den Konsum von SC unter forensischen Fällen aus Verkehrs- und Kriminaldelikten im Raum Hessen für das Jahr 2010 entspricht. Damit liegt die hier bestimmte Prävalenz in einem ähnlichen Bereich wie die Prävalenz von SC unter Fahrern mit auffälligem Fahrverhalten in Norwegen zwischen 2011 und 2012 (2,2%). [183] Für Deutschland wurden für das Jahr 2009 ähnliche Zahlen zur Prävalenz unter 18-24 Jährigen (1,8-1,9%) veröffentlicht. [177] Dabei muss berücksichtigt werden, dass Umfragestudien im Vergleich zu Studien, bei denen SC in Proben nachgewiesen werden, die Problematik haben, dass aufgrund individueller Begriffsinterpretationen für *Spice* und Kräutermischungen falsche Angaben zum Konsum gemacht werden, was die Umfrageergebnisse beeinflusst. [222] Auch geben nicht alle Konsumenten den Konsum an, wie sich in Norwegen zeigte, wo keiner der Konsumenten die Einnahme von SC zugab. [183] Die höchste Prävalenz für den Konsum von SC lieferte jedoch eine weltweite Onlineumfrage im Jahr 2011 mit 16,8% bei fast 15000 Teilnehmern. [180] Die hohe Prävalenz ist wahrscheinlich der Anonymisierung als Onlineumfrage zuzuschreiben. Über den *social media effect* (engl. für soziale Medien Effekt) verbreiten sich Anfragen zur Teilnahme an einer Onlineumfrage unter Freunden und Bekannten häufiger, so dass Konsumenten von SC ihren ebenfalls SC konsumierenden Freunden die Teilnahme an der Onlineumfrage empfehlen. Dadurch steigt die Zahl der SC Konsumenten im Vergleich zu den Nichtkonsumenten, welche sich nicht zur Teilnahme an der Onlineumfrage angesprochen fühlen, und die Ergebnisse der Umfrage werden weniger repräsentativ.

Den niedrigen Zahlen zur Prävalenz in Umfragestudien sowie den hier untersuchten Fällen aus Verkehrsdelikten stehen Untersuchungen von Patientenproben aus psychiatrischen Kliniken gegenüber, bei denen bis zu 80% der Proben positiv auf SC getestet wurden. [72] Des Weiteren lässt die steigende Zahl an Neuerscheinungen von SC auf dem Drogenmarkt (9 SC 2009, 11 SC 2010 und 23 SC 2011) eine höhere Prävalenz

vermuten. [79] Diese Marktdynamik ist vor allem der sukzessiven Illegalisierung der Substanzen zuzuschreiben. [72] Die vergleichsweise hohe Prävalenz in psychiatrischen Kliniken könnte aus dem erhöhten Anteil an Drogenabhängigen im Vergleich zur Normalbevölkerung resultieren, die durch den Konsum von SC positive Drogentests umgehen wollen, da deren Nachweisbarkeit im Vergleich zu anderen Rauschmitteln vermindert ist. [204]

Der Einfluss von SC kann für die Beurteilung von forensischen Fällen relevant sein. [72] Aus den 12 positiv getesteten, hessischen Blutproben stammte eine Probe aus einem Kriminaldelikt (8,3%) und alle anderen Proben aus Verkehrsdelikten (91,6%). Insgesamt waren 16,1% der analysierten Blutproben und 17,5% aller 2201 Blutproben aus dem Jahr 2010 aus Kriminaldelikten (Abbildung 8). Damit ist der Anteil der Kriminaldelikte unter den aus SC positiv getesteten Proben geringer. So ist anzunehmen, dass die Prävalenz von SC unter Kriminaldelikten nicht relevant höher ist als unter Verkehrsdelikten. Die Blutprobe des aus einem Kriminaldelikt stammenden Falls war von einem 46 Jahre alten Mann (Fall #3 in Tabelle 13) und positiv für SC (JWH-015) und Alkohol. Das Alter des Mannes lag deutlich über dem Altersdurchschnitt der positiv getesteten Fälle aus Verkehrsdelikten und kann als Ausnahme betrachtet werden.

Aus der digitalen Datenbank des Instituts für Rechtsmedizin Frankfurt am Main zeigte sich ein Rückgang der erfassten SC in den Jahren 2012 und 2013 (11,1% aus 153 analysierten Proben 2012; 3,1% aus 96 analysierten Proben 2013), was bestätigt, dass in Kräutermischungen neue Substanzen beigemengt werden oder der Konsum von SC aufgrund des medialen Interesses im Jahr 2010 häufiger war und nun rückläufig ist. [77] Die Zahlen aus den Jahren 2012 und 2013 können jedoch nicht als Prävalenz gewertet werden, da die Untersuchung auf SC ausschließlich in Fällen mit konkretem Verdacht auf einen SC Konsum oder in Fällen, in denen routinemäßig durchgeführte Untersuchungen keinen Aufschluss zu den Ausfallserscheinungen der Verdächtigen lieferten, durchgeführt wurden.

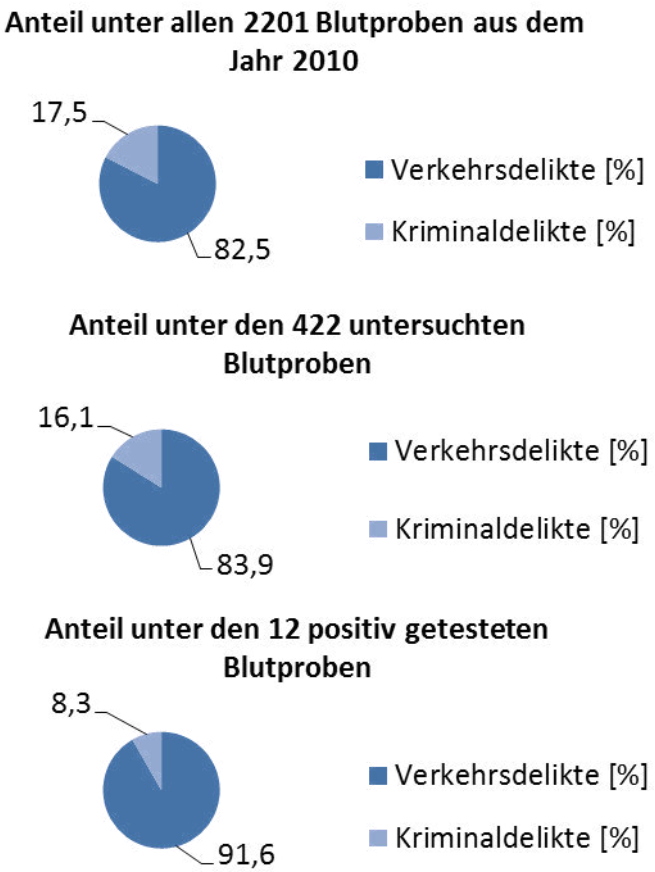


Abbildung 8: Verhältnis der Fälle von Verkehrs- zu Kriminaldelikten Dargestellt sind die Anteile der Verkehrs- und Kriminaldelikte unter den 2201 Blutproben aus dem Jahr 2010, den daraus untersuchten 422 Blutproben und den auf SC positiv getesteten Blutproben.

Bislang wurden einige Fälle von Intoxikationen durch SC berichtet. [153,157,168,223] Aus der Serie der vorliegenden positiven Blutproben lag nur in einem Fall (#7 in Tabelle 13) eine mögliche schwere Intoxikation vor. Dem polizeilichen Bericht zufolge litt der Konsument den gesamten Tag unter paranoiden Wahnvorstellungen und der Konsum von SC habe seine Symptome verstärkt. In der Blutprobe war neben dem SC JWH-122 auch Δ9-THC nachweisbar, was einen rezidivierenden oder frequenten Konsum dieser Substanzen nahelegt. Eine Toleranzentwicklung wäre möglich. Da die nachgewiesenen Konzentrationen des JWH-122 (unterhalb der Nachweisgrenze, <0,34 ng/ml) und des Δ9-THC (2,5 ng/ml) jedoch vergleichsweise niedrig waren, sind die Symptome des Verdächtigen mit dem hier nachgewiesenen Konsum nicht zu erklären. Wahrscheinlicher ist hingegen, dass die Symptome auf eine vom Konsumenten angegebene psychische Erkrankung zurückzuführen sind.

4.2.2 Konsumenten

In der vorliegenden Studie waren Zweidrittel der positiv getesteten Fahrer zwischen 18 und 25 Jahren alt, was ein Hinweis darauf sein kann, dass vor allem jüngere Menschen SC konsumieren (Tabelle 13). Das Medianalter der 12 positiv getesteten Blutproben lag bei 22,5 Jahren. Im Vergleich dazu lag das Alter unter allen Verdächtigen der 422 getesteten Blutproben zwischen 15 und 76 Jahren mit einem Medianalter von 27 Jahren. Ein vermehrter Konsum von SC bei jüngeren Menschen bestätigt sich dadurch, da das Medianalter des Probenkollektivs über dem Medianalter der positiv getesteten Konsumenten liegt. Auch aus einer im Jahr 2009 durchgeführten Studie in Deutschland ging hervor, dass der Konsum von SC in der jüngeren Altersgruppe häufiger war als unter den 30-49 Jährigen (0,1-0,3%). [177] Dem gegenüber stehen die Ergebnisse der norwegischen Studie unter Fahrern, in der das Medianalter der Konsumenten bei 29,5 Jahren lag. [183]

In der Studie aus dem Jahr 2009 waren mehr Konsumenten von SC männlich (0,6%) als weiblich (0,2%). [177] Dieser Trend scheint sich in der vorliegenden Arbeit zu bestätigen, da alle positiv getesteten Proben von Männern stammten. Dabei lag der Anteil der Männer unter den 422 untersuchten Blutproben bei 92,2% und unter allen 2201 Blutproben aus dem Jahr 2010 bei 93,2%. Ein häufigerer Konsum von SC unter Männern im Vergleich zu Frauen kann daher nicht gezeigt werden, da das Probenkollektiv bereits überwiegend aus Männern bestand. In der norwegischen Studie stammte eine aus 16 Blutproben von einer Frau (6,2%). [183] In einer Schülerbefragung unter 15-18 Jährigen in Frankfurt am Main im Jahr 2010 waren 82% derer, die mindestens einmal *Spice* konsumiert haben, männlich. [222]

4.2.3 Konsummuster

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass selten ausschließlich SC konsumiert werden und häufig eine Kombination aus SC mit Δ9-THC nachweisbar ist (Tabelle 13). Unter den 12 positiv auf SC getesteten Blutproben lag in zwei Fällen reiner SC Konsum und in vier Fällen ebenfalls der Konsum von Δ9-THC vor. Die Symptome nach dem Konsum von SC sind dosisabhängig und vergleichbar mit den Symptomen nach dem Konsum von Δ9-THC (Abbildung 4). [69,224] Die vergleichbaren

Symptome erklären neben der legalen Verfügbarkeit und mangelnden Nachweisbarkeit von SC in routinemäßigen Drogentests die Kombination beider Gruppen von Cannabinoiden neben Alkohol und Tabak. [77,180,194] Die Kombination von SC mit Alkohol war in der vorliegenden Arbeit in vier Fällen nachweisbar (Tabelle 13). Auch aus einer Schülerbefragung unter 15-18 Jährigen in Frankfurt bestätigte sich ein Mischkonsum von SC und Δ9-THC; 89% der Befragten, die mindestens einmal Kräutermischungen konsumiert haben, gaben im Jahr 2010 Konsumerfahrungen mit *Cannabis* an. [222] In der norwegischen Studie war Δ9-THC die am häufigsten nachgewiesene weitere Substanz neben SC. [183]

Die Beurteilung der Auswirkungen einzelner SC ist hier nur eingeschränkt möglich, da in den vorliegenden, analysierten Blutproben die Kombination mehrerer Drogen oder Medikamente mit SC dominierte. Häufig enthalten die Kräutermischungen mehr als ein SC. [225] Unter den in dieser Arbeit positiv getesteten Blutproben enthielten 25% (3 aus 12) mehr als ein SC. In der Hälfte der Fälle lag ausgenommen von SC und Δ9-THC eine Vielfalt anderer psychoaktiver Substanzen wie Alkohol, Amphetamin, Kokain, Benzoylecgonin, Morphin, Tramadol, Methadon, Diazepam, Nordiazepam und Bromazepam vor. Dies lässt annehmen, dass die Motivation zum Konsum von SC unabhängig von einer möglichen Detektion durch routinemäßige Drogentests ist und dass neue psychoaktive Drogen mit zum Teil unbekanntem Wirkspektrum eher von erfahrenen Drogenkonsumenten genommen werden. Dieser Annahme stehen Berichte entgegen, in denen Konsumenten den mangelnden Nachweis von SC in routinemäßigen Drogentests als ausdrücklichen Grund für das Konsumieren benennen. [226] Der Konsum von SC durch vor allem erfahrene Drogenkonsumenten bestätigt sich hingegen laut einer Umfrage in Frankfurter Schulen und der Ergebnisse in Norwegen. [183,222]

4.2.4 Substanzen

In der vorliegenden Arbeit wurden überwiegend niedrige Konzentrationen an SC ermittelt (Tabelle 13). Dies stimmt mit den Ergebnissen von Musshoff et al. und Tuv et al. überein und unterstreicht die Notwendigkeit sensitiverer analytischer Nachweisverfahren. [68,183] Da hier die analysierten Proben für fast drei Jahre bei -20°C gelagert wurden, ist ein wahrscheinlicher Grund für die ermittelten niedrigen Konzentrationen an SC der lange Lagerungszeitraum und die damit verbundenen

Substanzverluste. Kneisel et al. zeigten zwar eine Lagerungsstabilität von SC über einen Zeitraum von 14 Tagen bei -20°C, was Substanzverluste über mehrere Jahre dennoch nicht ausschließt. [204] Durch diese möglichen Substanzverluste ist trotz der hohen Sensitivität der analytischen Methode die Nichterfassung von Analyten bei der Probenanalyse möglich. Die tatsächliche Prävalenz von SC im Jahr 2010 könnte aufgrund zu geringer Konzentrationen der SC, aber auch aufgrund nicht durch die Methode messbarer, weiterer Substanzen höher liegen. Letzteres wurde hier durch die Erfassung aller bis zum Jahr 2011 auf dem Drogenmarkt befindlicher Substanzen basierend auf vertraulichen Informationen des Bundeskriminalamtes ausgeschlossen (2.4).

In der vorliegenden Arbeit wurde das SC JWH-122 am häufigsten nachgewiesen. In der Studie von Tuv et al. in Norwegen war JWH-122 nur in drei von 16 positiv getesteten Blutproben nachweisbar, wobei die SC AM-2201 und JWH-018 am häufigsten nachgewiesen wurden. [183] Dies ist vor dem Hintergrund des sich stetig wandelnden Angebotes auf dem Drogenmarkt und der landesspezifischen Illegalisierung von Substanzen nicht verwunderlich. [224] Eine Zunahme des Konsums von JWH-122 und JWH-210 zeigte sich auch im Raum Freiburg zwischen 2008 und 2011. [157]

Zur Trendabschätzung wurde eine Stichprobe aus 30 Blutproben des Jahres 2013, welche bei Verkehrskontrollen während eines Festivals in Deutschland ebenfalls zur Untersuchung auf Drogen und Medikamente entnommen wurden, untersucht. Keine der Blutproben war auf die hier untersuchten SC positiv getestet worden, wodurch sich bestätigt, dass aktuell auf dem Drogenmarkt erhältliche SC nur für einen begrenzten Zeitraum populär sind.

4.2.5 Auswirkungen

Analog zum Δ9-THC aus der Cannabispflanze binden SC an Cannabinoidrezeptoren, wodurch zentrale Sedierung und Beeinträchtigungen der Feinmotorik eintreten, die nicht mit dem sicheren Führen eines Fahrzeugs vereinbar sind. [1,68,110] Daher müssen Polizisten und forensische Toxikologen für die Auswirkungen des Konsums von SC sensibilisiert werden. [68] Insbesondere ist zu beachten, dass SC häufig potenter sind als Δ9-THC und damit stärkere Symptome hervorrufen. [145] Neben der höheren Bindungsaffinität von einigen SC zu Cannabinoidrezeptoren wird das Fehlen des

antipsychotisch wirksamen CBD in *Spice* als zusätzliche Ursache für die verstärkten Symptome im Gegensatz zu *Cannabis* angesehen (1.1.1). [159] Dabei berichteten Konsumenten, dass negative Symptome häufiger nach dem Konsum von SC als nach Δ9-THC-Konsum auftreten. [180]

In der vorliegenden Arbeit zeigte die Analyse polizeilicher und ärztlicher Berichte über die identifizierten Konsumenten von SC vor allem moderate Defizite (vgl. Tabelle 13 und 3.3). Die polizeilichen und ärztlichen Berichte gaben Informationen zu kognitiven und motorischen Defiziten inklusive durchgeführter Koordinierungstests, zu Verhaltensweisen und Stimmungen, zu Auffälligkeiten an den Augen inklusive der Pupillenreaktion, zum Geruch der Atemluft, zum Sprechverhalten sowie zum äußeren Erscheinungsbild und dem Gesamteindruck. Zusätzlich wurden die Aussagen der Verdächtigen bezüglich vom jeweiligen Vorfall unabhängigen Krankheiten sowie des Konsums von Drogen oder Medikamenten innerhalb der zurückliegenden 24 Stunden dokumentiert. In den Fällen #1 bis #6 stimmten die beobachteten Symptome mit den zu erwartenden Effekten nach Konsum von Agonisten der Cannabinoidrezeptoren überein. [227] Die Verdächtigen in den Fällen #1 und #3 verweigerten jedoch die Teilnahme an Tests, sodass nur eingeschränkt Beobachtungen gemacht werden konnten. Da in den Fällen #1 und #2 ausschließlich SC und in Fall #6 zusätzlich nur eine geringe Menge des Metaboliten THC-COOH nachweisbar waren, scheinen die Symptome wie geweitete Pupillen mit verzögerter Lichtreaktion, Augenlidzucken sowie Beeinträchtigungen in motorischen Tests hauptsächlich durch SC verursacht worden zu sein. Eine direkte Veränderung des Pupillendurchmessers nach Cannabiskonsum sei nach Fant et al. nicht typisch; vielmehr seien die Pupillen aufgrund einer herabgesetzten Lichtreaktion geweitet. [166] Dies ist ebenfalls eine mögliche Erklärung für geweitete Pupillen nach dem Konsum von SC. In einer Fallserie positiv auf SC getesteter Blutproben sind vergleichbare Symptome wie geweitete Pupillen mit verzögerter Lichtreaktion, verlangsamte Bewegungen, eingeschränkte feinmotorische Fähigkeiten, Gleichgewichtsstörungen, undeutliche Sprache, Desorientierung, Benommenheit, Gleichgültigkeit und Nervosität sowie in einem Fall depressive Stimmung beschrieben. [68] In zwei dieser Fälle aus dem Raum Freiburg wurden die Konsumenten bewusstlos. Die jeweils höchste Konzentration des gefundenen SC lag bei 4,6 ng/ml (AM-2201) und bei 4,0 ng/ml (JWH-210), wobei in anderen Fällen zum Teil höhere Konzentrationen an SC bei milderen Symptomen nachgewiesen wurden. [68] In den in der

vorliegenden Arbeit untersuchten Fällen trat keine Bewusstlosigkeit ein. Analog zu Musshoff et al. wurde hier in einem Fall eine depressive Stimmung dokumentiert. In Norwegen waren in acht von 16 Fällen Fahrer nach dem Konsum von SC beeinträchtigt, in vier Fällen wurden keine Beeinträchtigungen dokumentiert und in weiteren vier Fällen wurden keine klinischen Tests durchgeführt. [183] Von den in der Literatur beschriebenen, typischen Symptomen nach Konsum von SC, welche gleichzeitig untypisch für Δ9-THC-Konsum sind, lag in der vorliegenden Arbeit in drei Fällen Agitiertheit vor (vgl. 1.2.2 und Tabelle 13). In zwei Fällen mit beschriebener Agitiertheit waren neben SC nur Δ9-THC nachweisbar; in einem Fall (Fall #10) wurde zusätzlich zu SC Morphin detektiert, welches als Auslöser einer Agitiertheit in Betracht kommt. Krampfanfälle, Übelkeit und Emesis, arterielle Hypertonie oder Hypokaliämie wurden nicht beschrieben.

Die Auswirkungen in den Fällen #8 und #9 können hinreichend mit den direkten oder nachwirkenden Effekten des Konsums von Amphetaminen erklärt werden sowie in den Fällen #10, #11 und #12 mit jeweiligem Konsum mehrerer Drogen oder Medikamente.

In Fall #1 wurde eine vergleichsweise hohe Konzentration des JWH-122 von circa 73 ng/ml nachgewiesen, wobei ausschließlich Apathie als Symptom aus den Dokumenten hervorging. Dies ist erstaunlich, da SC im Allgemeinen aufgrund hoher Bindungsaffinitäten zu den Cannabinoidrezeptoren sehr potent sind und bereits geringe Konzentrationen SC ausreichen, um starke Symptome zu verursachen (vgl. 1.2.2). Das SC JWH-122 hat zum CB_1-Rezeptor eine Bindungsaffinität von K_1 = 0,69 nM und ist damit im Vergleich zur Bindungsaffinität von Δ9-THC mit K_1 = 40,7 nM für den gleichen Rezeptor sehr potent. [145,146] Bei manchen SC besteht sogar ein voller Agonismus am CB_1-Rezeptor wie bei JWH-018, wodurch eine stärkere Stimulierung des Rezeptors stattfindet. [147,228] Das hier nachgewiesene SC JWH-122 ist ebenfalls ein potenter Agonist des CB_1-Rezeptors. [145] Die Konstellation aus geringer Symptomausprägung und hoher detektierter Konzentration des SC lässt sich jedoch am ehesten durch eine Toleranzentwicklung infolge eines potentiellen, regelmäßigen Konsums erklären. Auch konnten durch die Verweigerung der Teilnahme an Tests keine Symptome ausgemacht werden. Die Konzentration des JWH-122 von circa 73 ng/ml ist im Vergleich mit ermittelten Konzentrationen anderer Studien außergewöhnlich hoch; in einer Studie unter Fahrern in Deutschland wurde die höchste Konzentration von 28 ng/ml für JWH-122 gemessen und in Norwegen lag die höchste Konzentration bei 1,67 ng/ml für JHW-122. [68,183]

Der Verdächtige in Fall #5 wirkte in Anbetracht der detektierten Konzentration von Cannabinoiden nicht deutlich berauscht, was wahrscheinlich auf den angegebenen regelmäßigen Drogenkonsum zurückzuführen ist. Abgeschwächte Effekte nach Konsum von Agonisten des Cannabinoidrezeptors können durch die Entwicklung einer Toleranz aufgrund von starkem Konsum eintreten. [175,229] Auf der anderen Seite waren in den Fällen #6 und #7 deutliche Symptome bei sehr geringen Konzentrationen von Cannabinoiden dokumentiert worden, was auf Entzugserscheinungen hindeuten kann. [224] Die Verdächtigen hatten einen regelmäßigen Konsum von Cannabinoiden zugegeben. In Fall #7 muss allerdings berücksichtigt werden, dass die angegebene psychische Erkrankung des Verdächtigen unabhängig vom Konsum der Cannabinoide ursächlich für die psychotischen Symptome sein kann.

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Aktuelle SC sind aufgrund von struktureller Vielfalt und stetig wechselndem Angebot auf dem Drogenmarkt erschwert nachweisbar. [204] Häufig fehlen Referenzmaterialien für die Analyse, wodurch neue Substanzen verzögert in Routineanalysen integriert werden können. [68] Die Entwicklung eines geeigneten Nachweisverfahrens, mit dem auch neue Substanzen zeitnah detektiert und bestimmt werden können, ist notwendig. [204] Solange derartige Nachweisverfahren nicht existieren, ist der routinemäßige Nachweis von SC bei Verkehrs- und Kriminaldelikten nicht rentabel. In der vorliegenden Arbeit lag in den meisten positiven Fällen eine Kombination von SC mit Δ9-THC oder anderen psychoaktiven Drogen oder Medikamenten vor, welche durch Routineanalysen erfasst wurden. Regelmäßiger Konsum von SC ist selten und war vor allem während des medialen Interesses für SC verstärkt zu beobachten. [77] Auch sind bislang die Kosten der Detektion von SC zu hoch, da die spezialisierte Analyse zeitaufwendig ist. Daher werden nur bei begründetem Verdacht Proben auf SC untersucht. Beispielsweise wechseln Konsumenten im Kontext von Abstinenzprogrammen bei Führerscheinangelegenheiten von Δ9-THC zu SC, um nicht positiv auf Drogen getestet zu werden. [68] Auch führt der Konsum mehrerer Drogen zum Entzug des Führerscheins. In diesen Fällen ist ein nachträglicher Test auf SC anzuraten.

In Deutschland besteht für die Verurteilung von Fahren unter Drogeneinfluss ein zweistufiges System, in dem mildere Sanktionen erhoben werden, wenn illegale Drogen

über einem bestimmten Schwellwert nachweisbar sind, und härtere Urteile gesprochen werden, wenn Fahrer in Folge des Konsums auch Beeinträchtigungen zeigen. [68] Bislang sind SC hiervon nicht betroffen und in Anlage II des Betäubungsmittelgesetztes aufgeführt, wonach SC als verkehrsfähig, aber nicht verschreibungsfähig gelten. [22] Die Anpassung des Strafmaßes für den Konsum von SC kann hier aufgrund der Wirkung und Potenz von SC im Vergleich zu Δ9-THC sinnvoll sein.
Schwere Intoxikationen bis hin zum Tod sind im Vergleich zur Häufigkeit milderer Symptome selten. [68,72,158,170] Da SC jedoch zentrale Sedierung und Beeinträchtigungen der Feinmotorik verursachen, was nicht mit dem sicheren Führen eines Fahrzeugs kompatibel ist, sollte eine Sensibilisierung von Polizisten und forensischen Toxikologen für die Auswirkungen des Konsums von SC stattfinden, damit bei einem Verdacht Analysen auf SC durchgeführt werden können. [68] Insbesondere gilt dies, da SC häufig potenter sind als Δ9-THC und damit stärkere Symptome auftreten. [145]

In Frankfurt werden seit dem Jahr 2012 Blutproben ausschließlich auf einen SC-Gehalt hin untersucht, wenn Konsumenten selbst Angaben zum Konsum von SC machen oder wenn polizeilich und ärztlich beobachtete psycho-physische Beeinträchtigungen sich nicht durch die Ergebnisse der toxikologischen Routineanalysen erklären lassen. Die Zahl der in den Jahren 2012 und 2013 detektierten Fälle des Konsums von SC ist gering und wahrscheinlich durch die Einschränkungen der analytischen Methode bedingt. Daher müssen sensitive Screeningverfahren zur Identifizierung von Substanzen ohne den Bedarf von Referenzsubstanzen etabliert werden, welche zeitnah an die aktuelle Situation auf dem Drogenmarkt angepasst werden können. Dies kann beispielsweise mithilfe hochauflösender akkurater Massenspektrometrie und einer umfangreichen Bibliothek geschehen, so dass neue und zu bekannten SC strukturell ähnliche Substanzen anhand von typischen Fragmentionen erkannt werden. [206,230] Die Verwendung einer Spektrenbibliothek verbessert seit 2014 bereits die Anpassung der Screeningverfahren an neue SC auf dem Drogenmarkt. [205] Aktuell werden in Frankfurt Proben, welche bei Verdacht auf einen SC Konsum entnommen wurden, an ein spezialisiertes deutsches Labor zur Analyse auf SC verschickt. Diese Vorgehensweise hat sich auch in anderen rechtsmedizinischen Instituten etabliert, da eine Erweiterung der Analyseverfahren mangels instrumenteller Ausstattung und personeller Ressourcen limitiert ist.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Synthetische Cannabinoide sind strukturell variable Substanzen, die an die gleichen CB_1- und CB_2-Rezeptoren binden wie Δ9-THC und bei Konsumenten vergleichbare Symptome auslösen. Die psychoaktiven Substanzen werden Kräutermischungen beigemengt und gelten unter Konsumenten vermeintlich als ungefährlich. Aufgrund erhöhter Bindungsaffinitäten zu den Cannabinoidrezeptoren sind viele synthetische Cannabinoide potenter als Δ9-THC und lösen daher stärkere Symptome aus als der Konsum von Δ9-THC. Der Konsum von synthetischen Cannabinoiden führt zu zentraler Sedierung und Beeinträchtigungen in der Feinmotorik; dies ist nicht mit dem sicheren Führen eines Fahrzeugs kompatibel. Durch die strukturelle Varianz von synthetischen Cannabinoiden und ein stetig wechselndes Spektrum aktuell auf dem Drogenmarkt erhältlicher Substanzen ist der generelle Nachweis des Konsums von synthetischen Cannabinoiden limitiert. Bislang sind synthetische Cannabinoide in Blut oder Urin nur bei bekannter Struktur und vorhandenen Referenzmaterialien mit Sicherheit nachweisbar. Studien zur Prävalenz von synthetischen Cannabinoiden sind rar und basieren häufig auf Umfragen, da auf Probenanalysen basierende Studien meist nicht alle aktuellen synthetischen Cannabinoiden erfassen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Prävalenz von synthetischen Cannabinoiden unter Fällen aus Verkehrs- und Kriminaldelikten des Jahres 2010 in Hessen bestimmt, um zu zeigen wie häufig synthetische Cannabinoide in forensischen Analysen unentdeckt bleiben. Die analytische Methode wurde entwickelt sowie validiert und war für alle 31 synthetischen Cannabinoide, die bis 2011 auf dem Drogenmarkt erhältlich waren, sensitiv. Eine repräsentative Stichprobe bestehen aus 20% aller Blutproben (422 aus 2201) des Jahres 2010 wurde nachuntersucht. Weitere Auswertungen wurden auf Basis von Fallakten durchgeführt.

Unter den analysierten Blutproben enthielten 12 Proben synthetische Cannabinoide, woraus für das Jahr 2010 eine Prävalenz von synthetischen Cannabinoiden unter Fällen aus Verkehrs- und Kriminaldelikten von 2,8% ermittelt wurde. Das am häufigsten detektierte synthetische Cannabinoid war JWH-122. Die Konzentrationen lagen überwiegend im niedrigen Bereich (unter 1 ng/ml bis 3 ng/ml). In einem Fall wurde eine vergleichsweise hohe Konzentration des JWH-122 mit circa 73 ng/ml gemessen, wobei

neben Apathie keine weiteren Symptome dokumentiert wurden. Alle Konsumenten waren männlich; das Alter lag in 11 Fällen zwischen 18 und 38 Jahren (median 22 Jahre) und die Konsumenten waren Verdächtige von Verkehrsdelikten. Eine weitere positiv getestete Blutprobe stammte aus einem Kriminaldelikt; der Verdächtige war 46 Jahre alt.

Die Auswertung der Konsummuster zeigte in 10 von 12 Fällen (83,3%) einen Mischkonsum. Nur in zwei Fällen lag ausschließlicher Konsum von synthetischen Cannabinoiden vor. Die Kombination von synthetischen Cannabinoiden mit Δ9-THC oder Alkohol war mit je vier Fällen häufig. In sechs Fällen wurde eine Vielfalt anderer psychoaktiver Drogen oder Medikamente in den Blutproben nachgewiesen.

Die dokumentierten Ausfallserscheinungen waren meist moderat und ließen sich durch die Effekte von Cannabinoiden, Alkohol oder anderen gefundenen Drogen oder Medikamenten erklären. Im Fall eines Konsumenten hat sich nach den Angaben in ärztlichen und polizeilichen Berichten durch den nachgewiesenen Konsum von synthetischen Cannabinoiden eine vorbestehende Psychose verschlimmert.

Fazit: Durch die geringe Prävalenz synthetischer Cannabinoide, fehlende routinemäßige Erfassbarkeit sowie Häufigkeit des Mischkonsums müssen Träger von rechtsmedizinischen Instituten in Ausstattung und Personal investieren, um den modernen Ansprüche an die Leistungsfähigkeit gerecht zu werden.

6 SUMMARY

Synthetic cannabinoids are structurally variable substances that bind to the same CB_1- and CB_2-receptors as Δ9-THC and cause similar symptoms in consumers. Often herbal mixtures are supplemented with these psychoactive substances and sold as allegedly safe. Due to higher binding affinities to the cannabinoid receptors, many synthetic cannabinoids are more potent than Δ9-THC and cause more severe symptoms than the consumption of Δ9-THC. The consumption of synthetic cannabinoids leads to centrally sedating effects and impairment of fine motor skills which are not compatible with safe driving. Hence the structural variance of synthetic cannabinoids and the continuously changing spectrum of new substances on the drug market, their detection is limited. Currently, synthetic cannabinoids are only reliably detectable in blood and urine if the structure is known and reference materials are available. Studies on the prevalence of synthetic cannabinoids are rare and mainly based on surveys, because studies based on sample analyses do not include all currently popular synthetic cannabinoids.

The present study is meant to determine the prevalence of synthetic cannabinoids in cases of traffic and criminal offences in the German state Hesse in 2010 in order to demonstrate how often synthetic cannabinoids remain undetected. The applied analytical method was developed and validated, and covered all 31 synthetic cannabinoids on the drug market at that time. With 20% of the blood samples (422 out of 2201) a representative number was reanalyzed. Further evaluation was based on case files.

In twelve samples synthetic cannabinoids were identified and a prevalence of 2.8% in cases of traffic and criminal offences was estimated. The most often detected synthetic cannabinoid was JWH-122. The determined concentrations were predominately low (below 1 ng/mL to 3 ng/mL). In one case a comparatively high concentration of JWH-122 of about 73 ng/ml was measured; besides apathy no further symptoms were documented in that case. All consumers were male; in eleven cases the age ranged from 18 to 38 years (median 22 years) and all the consumers were accused of traffic offences. One other positive tested blood sample originated from a 46 year old male who was accused of a criminal offence.

The evaluation of consumption patterns showed predominantly cases of multi-drug

consumption (83.3%). Only in two cases synthetic cannabinoids were found exclusively. The co-consumption of synthetic cannabinoids with Δ9-THC or alcohol was frequent (four cases each). In six cases a diversity of other psychoactive drugs was found in the tested blood samples.

The observed impairments were moderate with the exception of aggravation of paranoia in one case. The documented symptoms were either compatible with the effects of cannabinoid agonists or attributable to alcohol or other drugs found in the blood samples.

Conclusion: Due to the low prevalence of synthetic cannabinoids, lacking routine ascertainability and the amount of multi-drug consumption, forensic institutes need to invest in equipment and personnel in order to satisfy the requirements of high performance.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Grotenhermen F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(4):327-360.
2. Elsohly MA, Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci*. 2005;78(5):539-548.
3. Hillig KW. Genetic evidence for speciation in Cannabis (Cannabaceae). *Genet Resour Crop Evol*. 2005;52(2):161-180.
4. Mechoulam R, Gaoni Y. A total synthesis of dl-delta-1-tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish. *J Am Chem Soc*. 1965;87:3273-3275.
5. Green B, Kavanagh D, Young R. Being stoned: a review of self-reported cannabis effects. *Drug Alcohol Rev*. 2003;22(4):453-460.
6. Moore, Theresa H. M., Zammit S, Lingford-Hughes A, et al. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet*. 2007;370(9584):319-328.
7. D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, et al. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(8):1558-1572.
8. Henquet C, Krabbendam L, Spauwen J, et al. Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *BMJ*. 2005;330(7481):11.
9. Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1986;38(2):151-178.
10. Zuardi AW, Crippa, J A S, Hallak, J E C, Moreira FA, Guimarães FS. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. *Braz J Med Biol Res*. 2006;39(4):421-429.
11. Morgan CJA, Curran HV. Effects of cannabidiol on schizophrenia-like symptoms in people who use cannabis. *Br J Psychiatry*. 2008;192(4):306-307.
12. Donovan M. On the physical and medicinal qualities of Indian hemp (Cannabis Indica); with observations on the best mode of administration, and cases illustrative of its powers. *The Dublin Journal of Medical Science*. 1845;26(3):368-402.
13. Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol*. 2002;136(4):550-557.
14. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, et al. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*. 2001;410(6830):822-825.
15. Law B, Mason PA, Moffat AC, Gleadle RI, King LJ. Forensic aspects of the metabolism and excretion of cannabinoids following oral ingestion of cannabis resin. *J Pharm Pharmacol.* 1984;36(5):289-294.

16. Matsunaga T, Iwawaki Y, Watanabe K, Yamamoto I, Kageyama T, Yoshimura H. Metabolism of delta 9-tetrahydrocannabinol by cytochrome P450 isozymes purified from hepatic microsomes of monkeys. *Life Sci*. 1995;56(23-24):2089-2095.

17. Watanabe K, Yamaori S, Funahashi T, Kimura T, Yamamoto I. Cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of tetrahydrocannabinols and cannabinol by human hepatic microsomes. *Life Sci*. 2007;80(15):1415-1419.

18. Starks M. *Marijuana chemistry: Genetics, processing & potency.* 2nd ed. Berkeley, CA: Ronin Pub; 1990.

19. Jung J, Kempf J, Mahler H, Weinmann W. Detection of Delta9-tetrahydrocannabinolic acid A in human urine and blood serum by LC-MS/MS. *J Mass Spectrom*. 2007;42(3):354-360.

20. Raikos N, Schmid H, Nussbaumer S, et al. Determination of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A (Δ9-THCA-A) in whole blood and plasma by LC-MS/MS and application in authentic samples from drivers suspected of driving under the influence of cannabis. *Forensic Sci Int*. 2014;243:130-136.

21. *Betäubungsmittelgesetz Anlage I: BtMG*.

22. *Betäubungsmittelgesetz Anlage II: BtMG*.

23. *Betäubungsmittelgesetz Anlage III: BtMG*.

24. Grotenhermen F, Müller-Vahl K. The therapeutic potential of cannabis and cannabinoids. *Dtsch Arztebl Int*. 2012;109(29-30):495-501.

25. Devane WA, Hanus L, Breuer A, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 1992;258(5090):1946-1949.

26. Johnson DE, Heald SL, Dally RD, Janis RA. Isolation, identification and synthesis of an endogenous arachidonic amide that inhibits calcium channel antagonist 1,4-dihydropyridine binding. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1993;48(6):429-437.

27. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*. 1995;50(1):83-90.

28. Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther*. 2001;90(1):45-60.

29. Pertwee RG. Elevating endocannabinoid levels: pharmacological strategies and potential therapeutic applications. *Proc Nutr Soc*. 2014;73(1):96-105.

30. Mascia MS, Obinu MC, Ledent C, et al. Lack of morphine-induced dopamine release in the nucleus accumbens of cannabinoid CB(1) receptor knockout mice. *Eur J Pharmacol*. 1999;383(3):R1-2.

31. Miller CC, Murray TF, Freeman KG, Edwards GL. Cannabinoid agonist, CP 55,940, facilitates intake of palatable foods when injected into the hindbrain. *Physiol Behav*. 2004;80(5):611-616.

32. Saper CB. The central autonomic nervous system: conscious visceral perception and autonomic pattern generation. *Annu Rev Neurosci*. 2002;25:433-469.

33. Pacher P. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacol Rev*. 2006;58(3):389-462.

34. Kirkham TC, Williams CM. Synergistic effects of opioid and cannabinoid antagonists on food intake. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;153(2):267-270.

35. Rowland NE, Mukherjee M, Robertson K. Effects of the cannabinoid receptor antagonist SR 141716, alone and in combination with dexfenfluramine or naloxone, on food intake in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;159(1):111-116.

36. Gamber KM, Macarthur H, Westfall TC. Cannabinoids augment the release of neuropeptide Y in the rat hypothalamus. *Neuropharmacol*. 2005;49(5):646-652.

37. Hilairet S, Bouaboula M, Carrière D, Le Fur G, Casellas P. Hypersensitization of the Orexin 1 receptor by the CB1 receptor: evidence for cross-talk blocked by the specific CB1 antagonist, SR141716. *J Biol Chem*. 2003;278(26):23731-23737.

38. Tucci SA, Rogers EK, Korbonits M, Kirkham TC. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *Br J Pharmacol*. 2004;143(5):520-523.

39. Cani PD, Montoya ML, Neyrinck AM, Delzenne NM, Lambert DM. Potential modulation of plasma ghrelin and glucagon-like peptide-1 by anorexigenic cannabinoid compounds, SR141716A (rimonabant) and oleoylethanolamide. *Br J Nutr*. 2004;92(5):757-761.

40. Verty ANA, McFarlane JR, McGregor IS, Mallet PE. Evidence for an Interaction between CB 1 Cannabinoid and Melanocortin MCR-4 Receptors in Regulating Food Intake. *Endocrinology*. 2004;145(7):3224-3231.

41. Cota D, Marsicano G, Tschöp M, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest*. 2003;112(3):423-431.

42. Hermann H, Lutz B. Coexpression of the cannabinoid receptor type 1 with the corticotropin-releasing hormone receptor type 1 in distinct regions of the adult mouse forebrain. *Neurosci Lett*. 2005;375(1):13-18.

43. Kristensen P, Judge ME, Thim L, et al. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature*. 1998;393(6680):72-76.

44. Osei-Hyiaman D, Depetrillo M, Harvey-White J, et al. Cocaine- and amphetamine-related transcript is involved in the orexigenic effect of endogenous anandamide. *Neuroendocrinology*. 2005;81(4):273-282.

45. Maccarrone M, Bab I, Bíró T, et al. Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends in pharmacological sciences*. 2015;36(5):277-296.

46. Pertwee RG. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J*. 2005;7(3):E625-54.

47. Fernandez JR, Allison DB. Rimonabant Sanofi-Synthélabo. *Curr Opin Investig Drugs*. 2004;5(4):430-435.

48. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M, et al. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett*. 1994;350(2-3):240-244.

49. Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Bliddal H, Astrup A. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2007;370(9600):1706-1713.

50. Davis MP. Cannabinoids in pain management: CB1, CB2 and non-classic receptor ligands. *Expert Opin Investig Drugs*. 2014;23(8):1123-1140.

51. Murineddu G, Deligia F, Dore A, Pinna G, Asproni B, Pinna GA. Different classes of CB2 ligands potentially useful in the treatment of pain. *Recent Pat CNS Drug Discov*. 2013;8(1):42-69.

52. Boychuk DG, Goddard G, Mauro G, Orellana MF. The effectiveness of cannabinoids in the management of chronic nonmalignant neuropathic pain: a systematic review. *J Oral Facial Pain Headache*. 2015;29(1):7-14.

53. Novotna A, Mares J, Ratcliffe S, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, enriched-design study of nabiximols* (Sativex((R))), as add-on therapy, in subjects with refractory spasticity caused by multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2011;18(9):1122-1131.

54. Müller-Vahl KR. Treatment of Tourette syndrome with cannabinoids. *Behav Neurol*. 2013;27(1):119-124.

55. Hudson BD, Beazley M, Szczesniak A, Straiker A, Kelly, Melanie E M. Indirect sympatholytic actions at beta-adrenoceptors account for the ocular hypotensive actions of cannabinoid receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;339(3):757-767.

56. Pisanti S, Malfitano AM, Grimaldi C, et al. Use of cannabinoid receptor agonists in cancer therapy as palliative and curative agents. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009;23(1):117-131.

57. Cridge BJ, Rosengren RJ. Critical appraisal of the potential use of cannabinoids in cancer management. *Cancer Manag Res*. 2013;5:301-313.

58. Chakravarti B, Ravi J, Ganju RK. Cannabinoids as therapeutic agents in cancer: current status and future implications. *Oncotarget*. 2014;5(15):5852-5872.

59. Mittendorf J, Dressel J, Matzke M, et al., inventors. Verwendung von Agonisten des zentralen Cannabinoid-Rezeptors CB1. EP 0860168 B1.

60. Fagan SG, Campbell VA. The influence of cannabinoids on generic traits of neurodegeneration. *Br J Pharmacol*. 2014;171(6):1347-1360.

61. Unimed Pharmaceuticals I. *Marinol (Dronabinol): Beipackzettel*; 2004; NDA 18-651/S-021. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dockets/05n0479/05N-0479-emc0004-04.pdf. Accessed January 11, 2017.

62. Herman TS, Jones SE, Dean J, et al. Nabilone: a potent antiemetic cannabinol with minimal euphoria. *Biomedicine*. 1977;27(9-10):331-334.

63. Meda Pharmaceuticals Ltd. *Cesamet (nabilone): package insert*; 2013. http://www.cesamet.com/pdf/Cesamet_PI_50_count.pdf. Accessed January 11, 2017.

64. Meda Pharmaceuticals Ltd. *Nabilone: patient information leaflet*; 2014. https://www.medicines.org.uk/emc/PIL.20516.latest.pdf. Accessed January 11, 2017.

65. *25. Betäubungsmitteländerungsverordnung: 25. BtMÄndV*; 2011.

66. GW Pharma Ltd. *Sativex Spray zur Anwendung in der Mundhöhle*; 2011; 83727.00.00. http://www.cannabis-med.org/german/sativex.pdf.

67. Borgelt LM, Franson KL, Nussbaum AM, Wang GS. The pharmacologic and clinical effects of medical cannabis. *Pharmacotherapy*. 2013;33(2):195-209.

68. Musshoff F, Madea B, Kernbach-Wighton G, et al. Driving under the influence of synthetic cannabinoids ("Spice"): a case series. *Int J Legal Med*. 2014;128(1):59-64.

69. Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Müller M, Pütz M, Ferreirós N. 'Spice' and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *J Mass Spectrom*. 2009;44(5):832-837.

70. Dresen S, Ferreirós N, Pütz M, Westphal F, Zimmermann R, Auwärter V. Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds. *J Mass Spectrom*. 2010;45(10):1186-1194.

71. Fattore L, Fratta W. Beyond THC: The New Generation of Cannabinoid Designer Drugs. *Front Behav Neurosci*. 2011;5:60.

72. Auwärter V, Kneisel S, Hutter M, Thierauf A. Synthetische Cannabinoide. *Rechtsmedizin*. 2012;22(4):259-271.

73. Rosenbaum CD, Carreiro SP, Babu KM. Here Today, Gone Tomorrow…and Back Again? A Review of Herbal Marijuana Alternatives (K2, Spice), Synthetic Cathinones (Bath Salts), Kratom, Salvia divinorum, Methoxetamine, and Piperazines. *J Med Toxicol*. 2012;8(1):15-32.

74. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *Understanding the 'Spice' phenomenon*. Lisbon: EMCDDA; 2009. Thematic papers.

75. Hillebrand J, Olszewski D, Sedefov R. Legal Highs on the Internet. *Subst Use Misuse*. 2010;45(3):330-340.

76. Vardakou I, Pistos C, Spiliopoulou C. Spice drugs as a new trend: mode of action, identification and legislation. *Toxicol Lett*. 2010;197(3):157-162.

77. Auwärter V. *Synthetische Cannabinoide: Räuchermischungen / Kräutermischungen ‚Spice´-Produkte*. http://legal-high-inhaltsstoffe.de/sites/default/files/uploads/broschuere_deutsch_0_0.pdf. Accessed January 11, 2017.

78. Steup C. Untersuchung des Handelsproduktes "Spice". http://www.eve-rave.ch/Images/analyse-thc-pharm-spice-jwh-018.pdf. Accessed January 11, 2017.

79. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Perspektive on Drugs - Synthetic cannabinoids in Europe. http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_212361_EN_EMCDDA_POD_2013_Synthetic%20cannabinoids.pdf.

80. *24. Betäubungsmitteländerungsverordnung: 24. BtmÄndV*; 2009.

81. Castaneto MS, Gorelick DA, Desrosiers NA, Hartman RL, Pirard S, Huestis MA. Synthetic cannabinoids: Epidemiology, pharmacodynamics, and clinical implications. *Drug Alcohol Depend*. 2014;144:12-41.

82. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Synthetic cannabinoids in Europe: Interactive: demystifying the chemistry. http://www.emcdda.europa.eu/topics/pods/synthetic-cannabinoids. Accessed January 11, 2017.

83. Wiley JL, Marusich JA, Huffman JW. Moving around the molecule: Relationship between chemical structure and in vivo activity of synthetic cannabinoids. *Life Sci*. 2014;97(1):55-63.

84. Advisory Council on the Misuse of Drugs. Consideration of the major cannabinoid agonists. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/119149/acmd-report-agonists.pdf. Accessed January 11, 2017.

85. Johnson MR, Melvin LS, Milne GM. Prototype cannabinoid analgetics, prostaglandins and opiates--a search for points of mechanistic interaction. *Life Sci*. 1982;31(16-17):1703-1706.

86. Weissman A, Milne GM, Melvin LS. Cannabimimetic activity from CP-47,497, a derivative of 3-phenylcyclohexanol. *J Pharmacol Exp Ther*. 1982;223(2):516-523.

87. Johnson MR, Melvin LS. The discovery of nonclassical cannabinoid analgesics. In: R. Mechoulam, ed. *Cannabinoids as Therapeutic Agents*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1986:121-145.

88. Mechoulam R, Lander N, University A, Zahalka J. Synthesis of the individual, pharmacologically distinct, enantiomers of a tetrahydrocannabinol derivative. *Tetrahedron: Asymmetry*. 1990;1(5):315-318.

89. Howlett AC, Berglund B, Melvin LS. Cannabinoid Receptor Agonists and Antagonists. *Curr Pharm Des*. 1995;(1):343-354.

90. Bell MR, D'Ambra TE, Kumar V, et al. Antinociceptive (aminoalkyl)indoles. *J Med Chem*. 1991;34(3):1099-1110.

91. D'Ambra TE, Estep KG, Bell MR, et al. Conformationally restrained analogues of pravadoline: nanomolar potent, enantioselective, (aminoalkyl)indole agonists of the cannabinoid receptor. *J Med Chem*. 1992;35(1):124-135.

92. Compton DR, Gold LH, Ward SJ, Balster RL, Martin BR. Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992;263(3):1118-1126.

93. Eissenstat MA, Bell MR, D'Ambra TE, et al. Aminoalkylindoles: structure-activity relationships of novel cannabinoid mimetics. *J Med Chem*. 1995;38(16):3094-3105.

94. Huffman JW, Dai D, Martin BR, Compton DR. Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles. *Bioorg Med Chem Lett*. 1994;4(4):563-566.

95. Makriyannis A, Deng H, inventors. Cannabimimetic indole derivatives. US6900236 B1.

96. Martin BR, Razdan RK, Mahadevan A, inventors. Water Soluble Cannabinoids. US20080064679 A1.

97. Fitzgerald SP, Innocenzi PJ, Benchikh E, Lowry PA, McConnell IR, inventors. Detection of Synthetic Cannabinoids. US20130196354 A1.

98. Brizzi A, Brizzi V, Sirianni R, Di Marzo V, Garzia M, Bisogno T, inventors. Potent and selective ligands of cannabinoid receptors. US 20090043129 A1.

99. Brizzi A, Brizzi V, Cascio MG, Bisogno T, Sirianni R, Di Marzo V. Design, synthesis, and binding studies of new potent ligands of cannabinoid receptors. *J Med Chem*. 2005;48(23):7343-7350.

100. Gandhi AS, Zhu M, Pang S, et al. First characterization of AKB-48 metabolism, a novel synthetic cannabinoid, using human hepatocytes and high-resolution mass spectrometry. *AAPS J*. 2013;15(4):1091-1098.

101. Buchler IP, Hayes MJ, Hegde SG, et al., inventors. Indazole derivatives. WO2009106982 A1.

102. Wohlfarth A, Gandhi AS, Pang S, Zhu M, Scheidweiler KB, Huestis MA. Metabolism of synthetic cannabinoids PB-22 and its 5-fluoro analog, 5F-PB-22, by human hepatocyte incubation and high-resolution mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2014;406(6):1763-1780.

103. Wohlfarth A, Pang S, Zhu M, et al. First metabolic profile of XLR-11, a novel synthetic cannabinoid, obtained by using human hepatocytes and high-resolution mass spectrometry. *Clin Chem*. 2013;59(11):1638-1648.

104. Gandhi AS, Zhu M, Pang S, Wohlfarth A, Scheidweiler KB, Huestis MA. Metabolite profiling of RCS-4, a novel synthetic cannabinoid designer drug, using human hepatocyte metabolism and TOF-MS. *Bioanalysis*. 2014;6(11):1471-1485.

105. Willis PG, Pavlova OA, Chefer SI, Vaupel DB, Mukhin AG, Horti AG. 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(18):5813-5822.

106. Deng H, Gifford AN, Zvonok AM, et al. Potent cannabinergic indole analogues as radioiodinatable brain imaging agents for the CB1 cannabinoid receptor. *J Med Chem*. 2005;48(20):6386-6392.

107. Huffman JW. Cannabimimetic Indoles, Pyrroles, and Indenes: Structure-Activity Relationships and Receptor Interactions. In: Reggio PH, ed. The cannabinoid receptors. New York: Humana; 2009:49-94. The receptors.

108. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Millan J, et al. SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;284(2):644-650.

109. Monory K, Blaudzun H, Massa F, et al. Genetic Dissection of Behavioural and Autonomic Effects of Δ9-Tetrahydrocannabinol in Mice. *Plos Biol*. 2007;5(10):e269.

110. Huestis MA, Gorelick DA, Heishman SJ, et al. Blockade of effects of smoked marijuana by the CB1-selective cannabinoid receptor antagonist SR141716. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58(4):322-328.

111. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988;34(5):605-613.

112. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. 1990;346(6284):561-564.

113. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993;365(6441):61-65.

114. Howlett AC. Inhibition of neuroblastoma adenylate cyclase by cannabinoid and nantradol compounds. *Life Sci*. 1984;35(17):1803-1810.

115. Howlett AC, Fleming RM. Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol*. 1984;26(3):532-538.

116. Caulfield MP, Brown DA. Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca current in NG108-15 neuroblastoma cells via a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br J Pharmacol*. 1992;106(2):231-232.

117. Mackie K, Hille B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(9):3825-3829.

118. Grotenhermen F. Cannabinoids. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2005;4(5):507-530.

119. Ishac EJ, Jiang L, Lake KD, Varga K, Abood ME, Kunos G. Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB1 receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br J Pharmacol*. 1996;118(8):2023-2028.

120. Nakazi M, Bauer U, Nickel T, Kathmann M, Schlicker E. Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB1 receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2000;361(1):19-24.

121. Kreitzer AC, Regehr WG. Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. *Neuron*. 2001;29(3):717-727.

122. Ohno-Shosaku T, Maejima T, Kano M. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron*. 2001;29(3):729-738.

123. Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature*. 2001;410(6828):588-592.

124. Chevaleyre V, Takahashi KA, Castillo PE. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci*. 2006;29:37-76.

125. Straiker A, Mackie K. Metabotropic suppression of excitation in murine autaptic hippocampal neurons. *J Physiol (Lond)*. 2007;578(Pt 3):773-785.

126. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa, B. R., Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci*. 1991;11(2):563-583.

127. Hohmann AG, Martin WJ, Tsou K, Walker JM. Inhibition of noxious stimulus-evoked activity of spinal cord dorsal horn neurons by the cannabinoid WIN 55,212-2. *Life Sci*. 1995;56(23-24):2111-2118.

128. Martin WJ, Hohmann AG, Walker JM. Suppression of noxious stimulus-evoked activity in the ventral posterolateral nucleus of the thalamus by a cannabinoid

agonist: correlation between electrophysiological and antinociceptive effects. *J Neurosci*. 1996;16(20):6601-6611.

129. Tsou K, Lowitz KA, Hohmann AG, et al. Suppression of noxious stimulus-evoked expression of Fos protein-like immunoreactivity in rat spinal cord by a selective cannabinoid agonist. *Neuroscience*. 1996;70(3):791-798.
130. Tsou K, Brown S, Sañudo-Peña MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*. 1998;83(2):393-411.
131. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*. 2002;54(2):161-202.
132. Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(11):873-884.
133. Silvestri C, Di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab*. 2013;17(4):475-490.
134. Bénard G, Massa F, Puente N, et al. Mitochondrial CB_1 receptors regulate neuronal energy metabolism. *Nat Neurosci*. 2012;15(4):558-564.
135. Hebert-Chatelain E, Reguero L, Puente N, et al. Cannabinoid control of brain bioenergetics: Exploring the subcellular localization of the CB1 receptor. *Mol Metab*. 2014;3(4):495-504.
136. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*. 2005;310(5746):329-332.
137. Ashton JC, Friberg D, Darlington CL, Smith PF. Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: an immunohistochemical study. *Neurosci Lett*. 2006;396(2):113-116.
138. Gong J, Onaivi ES, Ishiguro H, et al. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res*. 2006;1071(1):10-23.
139. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong J, et al. Brain Neuronal CB2 Cannabinoid Receptors in Drug Abuse and Depression: From Mice to Human Subjects. *PLoS ONE*. 2008;3(2):e1640.
140. Di Marzo V, Deutsch DG. Biochemistry of the endogenous ligands of cannabinoid receptors. *Neurobiol Dis*. 1998;5(6 Pt B):386-404.
141. Devane WA, Hanus L, Breuer A, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 1992;258(5090):1946-1949.
142. Sheskin T, Hanus L, Slager J, Vogel Z, Mechoulam R. Structural requirements for binding of anandamide-type compounds to the brain cannabinoid receptor. *J Med Chem*. 1997;40(5):659-667.
143. Showalter VM, Compton DR, Martin BR, Abood ME. 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(3):989-999.

144. Shim JY, Collantes ER, Welsh WJ, et al. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship study of the cannabimimetic (aminoalkyl)indoles using comparative molecular field analysis. *J Med Chem*. 1998;41(23):4521-4532.

145. Huffman JW, Mabon R, Wu M, et al. 3-Indolyl-1-naphthylmethanes: new cannabimimetic indoles provide evidence for aromatic stacking interactions with the CB1 cannabinoid receptor. *Bioorg Med Chem*. 2003;11(4):539-549.

146. Compton DR, Rice KC, de Costa, B. R., et al. Cannabinoid structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities. *J Pharmacol Exp Ther*. 1993;265(1):218-226.

147. Atwood BK, Huffman J, Straiker A, Mackie K. JWH018, a common constituent of 'Spice' herbal blends, is a potent and efficacious cannabinoid CB1 receptor agonist. *Br J Pharmacol*. 2010;160(3):585-593.

148. Paronis CA, Nikas SP, Shukla VG, Makriyannis A. Δ(9)-Tetrahydrocannabinol acts as a partial agonist/antagonist in mice. *Behav Pharmacol*. 2012;23(8):802-805.

149. Koller VJ, Ferk F, Al-Serori H, et al. Genotoxic properties of representatives of alkylindazoles and aminoalkyl-indoles which are consumed as synthetic cannabinoids. *Food Chem Toxicol*. 2015;80:130-136.

150. Tomiyama K, Funada M. Cytotoxicity of synthetic cannabinoids on primary neuronal cells of the forebrain: the involvement of cannabinoid CB1 receptors and apoptotic cell death. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;274(1):17-23.

151. Pellerito O, Notaro A, Sabella S, et al. WIN induces apoptotic cell death in human colon cancer cells through a block of autophagic flux dependent on PPARγ down-regulation. *Apoptosis*. 2014;19(6):1029-1042.

152. Giuliano M, Pellerito O, Portanova P, et al. Apoptosis induced in HepG2 cells by the synthetic cannabinoid WIN: involvement of the transcription factor PPARgamma. *Biochimie*. 2009;91(4):457-465.

153. Forrester MB, Kleinschmidt K, Schwarz E, Young A. Synthetic cannabinoid exposures reported to Texas poison centers. *J Addict Dis*. 2011;30(4):351-358.

154. Hoyte CO, Jacob J, Monte AA, Al-Jumaan M, Bronstein AC, Heard KJ. A characterization of synthetic cannabinoid exposures reported to the National Poison Data System in 2010. *Ann Emerg Med*. 2012;60(4):435-438.

155. Pant S, Deshmukh A, Dholaria B, et al. Spicy Seizure. *Am J Med Sci*. 2012;344(1):67-68.

156. Schneir AB, Baumbacher T. Convulsions Associated with the Use of a Synthetic Cannabinoid Product. *J Med Toxicol*. 2012;8(1):62-64.

157. Hermanns-Clausen M, Kneisel S, Szabo B, Auwärter V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. *Addiction*. 2013;108(3):534-544.

158. Dart RC, Bronstein AC, Spyker DA, et al. Poisoning in the United States: 2012 emergency medicine report of the national poison data system. *Ann Emerg Med*. 2015;65(4):416-422.

159. Müller H, Sperling W, Köhrmann M, Huttner HB, Kornhuber J, Maler J. The synthetic cannabinoid Spice as a trigger for an acute exacerbation of cannabis induced recurrent psychotic episodes. *Schizophr Res*. 2010;118(1-3):309-310.

160. Every-Palmer S. Synthetic cannabinoid JWH-018 and psychosis: an explorative study. *Drug Alcohol Depend*. 2011;117(2-3):152-157.

161. Kazory A, Aiyer R. Synthetic marijuana and acute kidney injury: an unforeseen association. *Clin Kidney J*. 2013;6(3):330-333.

162. Lapoint J, James LP, Moran CL, Nelson LS, Hoffman RS, Moran JH. Severe toxicity following synthetic cannabinoid ingestion. *Clin Toxicol (Phila)*. 2011;49(8):760-764.

163. Mir A, Obafemi A, Young A, Kane C. Myocardial infarction associated with use of the synthetic cannabinoid K2. *Pediatrics*. 2011;128(6):e1622-7.

164. Gazarik R. Artificial marijuana causes death of Westmoreland boy. *Pittsburgh Tribune Trib-Live website*. Updated October 27, 2011. http://triblive.com/x/pittsburghtrib/news/breaking/s_764158.html#axzz2f0qwfDwr. Accessed January 11, 2017.

165. Huhnstock K, Kutscha W. *Diagnose und Therapie in der Praxis*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1974.

166. Fant R, Heishman SJ, Bunker EB, Pickworth WB. Acute and Residual Effects of Marijuana in Humans. *Pharmacol Biochem Behav*. 1998;60(4):777-784.

167. Hirvonen J, Goodwin RS, Li C, et al. Reversible and regionally selective downregulation of brain cannabinoid CB1 receptors in chronic daily cannabis smokers. *Mol Psychiatry*. 2012;17(6):642-649.

168. Schneir AB, Cullen J, Ly BT. "Spice" Girls: Synthetic Cannabinoid Intoxication. *J Emerg Med*. 2011;40(3):296-299.

169. Glue P, Al-Shaqsi S, Hancock D, Gale C, Strong B, Schep L. Hospitalisation associated with use of the synthetic cannabinoid K2. *N Z Med J*. 2013;126(1377):18-23.

170. Behonick G, Shanks KG, Firchau DJ, et al. Four postmortem case reports with quantitative detection of the synthetic cannabinoid, 5F-PB-22. *J Anal Toxicol*. 2014;38(8):559-562.

171. Koller VJ, Zlabinger GJ, Auwärter V, Fuchs S, Knasmueller S. Toxicological profiles of selected synthetic cannabinoids showing high binding affinities to the cannabinoid receptor subtype CB_1. *Arch Toxicol*. 2013;87(7):1287-1297.

172. Gorelick DA, Levin KH, Copersino ML, et al. Diagnostic criteria for cannabis withdrawal syndrome. *Drug Alcohol Depend*. 2012;123(1-3):141-147.

173. Verweij KJH, Agrawal A, Nat NO, et al. A genetic perspective on the proposed inclusion of cannabis withdrawal in DSM-5. *Psychol Med*. 2013;43(8):1713-1722.

174. Nacca N, Vatti D, Sullivan R, Sud P, Su M, Marraffa J. The synthetic cannabinoid withdrawal syndrome. *J Addict Med*. 2013;7(4):296-298.

175. Zimmermann US, Winkelmann PR, Pilhatsch M, Nees JA, Spanagel R, Schulz K. Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of "spice gold". *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106(27):464-467.

176. Macfarlane V, Christie G. Synthetic cannabinoid withdrawal: A new demand on detoxification services. *Drug Alcohol Rev*. 2015.

177. Pabst A, Piontek D, Kraus L, Müller S. Substance use and substance use disorders: Results of the 2009 epidemiological survey of substance abuse. *Sucht*. 2010;56(5):327-336.

178. Home Office. Drug Misuse Declared: Findings from the 2011/12 Crime Survey for England and Wales 2nd edition. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/147938/drugs-misuse-dec-1112-pdf.pdf. Accessed January 11, 2017.

179. Stogner JM, Miller BL. Investigating the 'bath salt' panic: The rarity of synthetic cathinone use among students in the United States. *Drug Alcohol Rev*. 2013:n/a.

180. Winstock AR, Barratt MJ. Synthetic cannabis: A comparison of patterns of use and effect profile with natural cannabis in a large global sample. *Drug Alcohol Depend*. 2013;131(1-2):106-111.

181. Heltsley R, Shelby MK, Crouch DJ, et al. Prevalence of Synthetic Cannabinoids in U.S. Athletes: Initial Findings. *J Anal Toxicol*. 2012;36(8):588-593.

182. Berry-Caban CS, Kleinschmidt PE, Rao DS, Jenkins J. Synthetic cannabinoid and cathinone use among us soldiers. *US Army Med Dep J*. 2012:19-24.

183. Tuv SS, Krabseth H, Karinen R, Olsen KM, Øiestad EL, Vindenes V. Prevalence of synthetic cannabinoids in blood samples from Norwegian drivers suspected of impaired driving during a seven weeks period. *Accid Anal Prev*. 2014;62:26-31.

184. Werse B, Morgenstern C, Lind-Krämer R. Monitoring System Drogentrends - Jahresbericht 2013. http://www.uni-frankfurt.de/52062232/MoSyD_Jahresbericht-2013_final.pdf . Accessed January 11, 2017.

185. Clinical Committee of the Government Delegation for the National Plan on Drugs. *Emerging drugs*. Madrid: Ministry of Health, Social policy and Equality; 2011. Clinical Committee Reports; 6. http://www.pnsd.msssi.gob.es/profesionales/publicaciones/catalogo/catalogoPNSD/publicaciones/pdf/DROGAS_EMERGENTES_ingles_WEB.pdf. Accessed January 11, 2017.

186. Hu X, Primack BA, Barnett TE, Cook RL. College students and use of K2: an emerging drug of abuse in young persons. *Subst Abuse Treat Prev Policy*. 2011;6(1):16.

187. Johnston LD, O'Malley PM, Bachman JG, Schulenberg JE. *Monitoring the Future national survey results on drug use, 1975-2012: Volume 1, Secondary school students:* Ann Arbor: Institute for Social Research, The University of Michigan; 2013. http://monitoringthefuture.org/pubs/monographs/mtf-vol1_2012.pdf. Accessed January 11, 2017.

188. Johnston LD, O'Malley PM, Bachman JG, Schulenberg JE. *American Teens More Cautious About Using Synthetic Drugs: Monitoring the Future - Press release*. http://www.monitoringthefuture.org/pressreleases/13drugpr_complete.pdf. Accessed January 11, 2017.

189. Goldberg C. 2012 Partnership Attitude Tracking Study - Sponsered by MetLife Foundation: Teens and Parents. http://www.drugfree.org/newsroom/full-report-

and-key-findings-the-2012-partnership-attitude-tracking-study-sponsored-by-metlife-foundation/. Accessed January 11, 2017.

190. Johnston LD, O'Malley PM, Bachman JG, Schulenberg JE. *Monitoring the Future national survey results on drug use, 1975-2012: Volume 2, College students and adults aged 19-50:* Ann Arbor: Institute for Social Research, The University of Michigan; 2013. http://monitoringthefuture.org/pubs/monographs/mtf-vol2_2012.pdf. Accessed January 11, 2017.
191. Kelly BC, Wells BE, Pawson M, Leclair A, Parsons JT, Golub SA. Novel psychoactive drug use among younger adults involved in US nightlife scenes. *Drug Alcohol Rev*. 2013.
192. Wood DM, Hunter L, Measham F, Dargan PI. Limited use of novel psychoactive substances in South London nightclubs. *QJM*. 2012;105(10):959-964.
193. Winstock A. MixMag / Global drugs survey. https://issuu.com/mixmagfashion/docs/drugs_survey_2012_2. Accessed January 11, 2017.
194. Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend*. 2012;120(1-3):238-241.
195. Kudo K, Nagata T, Kimura K, Imamura T, Jitsufuchi N. Sensitive determination of delta 9-tetrahydrocannabinol in human tissues by GC-MS. *J Anal Toxicol*. 1995;19(2):87-90.
196. Rosenthal D, Harvey TM, Bursey JT, Brine DR, Wall ME. Comparison of gas chromatography mass spectrometry methods for the determination of delta9-tetrahydrocannabinol in plasma. *Biomed Mass Spectrom*. 1978;5(4):312-316.
197. Shaw LM, Edling-Owens J, Mattes R. Ultrasensitive measurement of delta-9-tetrahydrocannabinol with a high energy dynode detector and electron-capture negative chemical-ionization mass spectrometry. *Clin Chem*. 1991;37(12):2062-2068.
198. Foltz RL, McGinnis KM, Chinn DM. Quantitative measurement of delta 9-tetrahydrocannabinol and two major metabolites in physiological specimens using capillary column gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrom*. 1983;10(5):316-323.
199. Nelson CC, Fraser MD, Wilfahrt JK, Foltz RL. Gas chromatography/tandem mass spectrometry measurement of delta 9-tetrahydrocannabinol, naltrexone, and their active metabolites in plasma. *Ther Drug Monit*. 1993;15(6):557-562.
200. Staub C. Chromatographic procedures for determination of cannabinoids in biological samples, with special attention to blood and alternative matrices like hair, saliva, sweat and meconium. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1999;733(1-2):119-126.
201. Moeller MR, Steinmeyer S, Kraemer T. Determination of drugs of abuse in blood. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1998;713(1):91-109.
202. Elsohly MA, Gul W, Wanas AS, Radwan MM. Synthetic cannabinoids: analysis and metabolites. *Life Sci*. 2014;97(1):78-90.

203. Dresen S, Kneisel S, Weinmann W, Zimmermann R, Auwärter V. 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(2):163-171.

204. Kneisel S, Auwärter V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J Mass Spectrom*. 2012;47(7):825-835.

205. Huppertz LM, Kneisel S, Auwärter V, Kempf J. A comprehensive library-based, automated screening procedure for 46 synthetic cannabinoids in serum employing liquid chromatography-quadrupole ion trap mass spectrometry with high-temperature electrospray ionization. *J Mass Spectrom*. 2014;49(2):117-127.

206. Hutter M, Broecker S, Kneisel S, Auwärter V. 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(1):54-65.

207. Möller I, Wintermeyer A, Bender K, et al. Screening for the synthetic cannabinoid JWH-018 and its major metabolites in human doping controls. *Drug Test Anal*. 2011;3(9):609-620.

208. Freijo TD, Harris SE, Kala SV. A rapid quantitative method for the analysis of synthetic cannabinoids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol*. 2014;38(8):466-478.

209. Sobolevsky T, Prasolov I, Rodchenkov G. Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine. *Forensic Sci Int*. 2010;200(1-3):141-147.

210. Coulter C, Garnier M, Moore C. Synthetic cannabinoids in oral fluid. *J Anal Toxicol*. 2011;35(7):424-430.

211. Kneisel S, Speck M, Moosmann B, Corneillie TM, Butlin NG, Auwärter V. 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(14):4691-4706.

212. Salomone A, Gerace E, D'Urso F, Di Corcia D, Vincenti M. 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(5):604-610.

213. Hutter M, Kneisel S, Auwärter V, Neukamm MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*. 2012;903:95-101.

214. Berkowitz EA, Henry TS, Veeraraghavan S, Staton GW, Gal AA. Pulmonary Effects of Synthetic Marijuana: Chest Radiography and CT Findings. *AJR Am. J. Roentgenol.* 2014:1-8.

215. Johansson E, Halldin MM. Urinary excretion half-life of delta 1-tetrahydrocannabinol-7-oic acid in heavy marijuana users after smoking. *J Anal Toxicol*. 1989;13(4):218-223.

216. Fraser AD, Worth D. Urinary excretion profiles of 11-nor-9-carboxy-Delta9-tetrahydrocannabinol: a Delta9-THC-COOH to creatinine ratio study #2. *Forensic Sci Int*. 2003;133(1-2):26-31.

217. Madea B, Mußhoff F. *Haaranalytik: Technik und Interpretation in Medizin und Recht*. Köln: Dt. Ärzte-Verl; 2004.

218. Jaenicke NJ, Pogoda W, Paulke A, Wunder C, Toennes SW. Retrospective analysis of synthetic cannabinoids in serum samples – epidemiology and consumption patterns. *Forensic Sci Int*. 2014;242:81-87.

219. Peters FT, Hartung M, Herbold M, Schmitt G, Daldrup T, Mußhoff F. Anhang B zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen: Anforderungen an die Validierung von Analysemethoden. *Toxichem Krimtech*. 2009;76(3):185-208.

220. Kolb M, Bahr A, Hippich S, Schulz W. Calculation of detection limit, identification limit and determination limit according to DIN 32645 with the aid of a computer program. *Acta hydrochim hydrobiol*. 1993;21(6):308-311.

221. Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC−MS/MS. *Anal Chem*. 2003;75(13):3019-3030.

222. Werse B, Müller O, Schell C, Morgenstern C. Monitoring System Drogentrends - Jahresbericht 2010: Drogentrends in Frankfurt am Main. http://www.frankfurt.de/sixcms/media.php/738/MoSyD-Jahresbericht%202010%20%20Gesamtdokument.pdf. Accessed January 11, 2017.

223. Kronstrand R, Roman M, Andersson M, Eklund A. Toxicological findings of synthetic cannabinoids in recreational users. *J Anal Toxicol*. 2013;37(8):534-541.

224. Auwärter V, Dargan PI, Wood DM. Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists. In: Dargan PI, Wood DM, eds. *Novel psychoactive substances: Classification, pharmacology and toxicology*. Amsterdam, Boston: Elsevier/Academic Press; 2013:317-343.

225. Zuba D, Byrska B, Maciow M. Comparison of "herbal highs" composition. *Anal Bioanal Chem*. 2011;400(1):119-126.

226. Werse B, Morgenstern C. How to handle legal highs? Findings from a German online survey and considerations on drug policy issues. *Drugs and Alcohol Today*. 2012;12(4):222-231.

227. Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system. *Pharmacol Ther*. 2001;90(1):45-60.

228. Huffman JW, Szklennik PV, Almond A, et al. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles, a new class of cannabimimetic indoles. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005;15(18):4110-4113.

229. Rominger A, Cumming P, Xiong G, et al. Effects of acute detoxification of the herbal blend 'Spice Gold' on dopamine D2/3 receptor availability: a [18F]fallypride PET study. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013;23(11):1606-1610.

230. Hudson S, Ramsey J, King L, et al. Use of high-resolution accurate mass spectrometry to detect reported and previously unreported cannabinomimetics in "herbal high" products. *J Anal Toxicol*. 2010;34(5):252-260.

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Phytocannabinoide aus der Cannabispflanze, Metabolite und klassische synthetische Cannabinoide 2
Abbildung 2: Endocannabinoide und weitere Strukturen 4
Abbildung 3: Gruppen der synthetischen Cannabinoide 7
Abbildung 4: Symptome nach Konsum synthetischer Cannabinoide 12
Abbildung 5: Strukturformeln von 31 synthetischen Cannabinoiden 22
Abbildung 6: Interne Standards 22
Abbildung 7: Berechnung von Matrixeffekt und Wiederfindung 31
Abbildung 8: Verhältnis der Fälle von Verkehrs- zu Kriminaldelikten 61

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gruppen der synthetischen Cannabinoide mit Beispielen 8
Tabelle 2: Zusammenfassung der Prävalenz von SC, 2009-2013 15
Tabelle 3: Chemikalien 20
Tabelle 4: CAS-Nummern der synthetischen Cannabinoide und internen Standards 23
Tabelle 5: Pipettierschema der flüssig-flüssig Extraktion 25
Tabelle 6: Parameter des Tandemmassenspektrometers für die Detektion der Analyten 27
Tabelle 7: Pipettierschema zur Bestimmung von Matrixeffekt und Wiederfindung . 31
Tabelle 8: Grenzwerte der analytischen Methode 35
Tabelle 9: Matrixeffekt und Wiederfindung der analytischen Methode 37
Tabelle 10: Variationskoeffizienten der Reinsubstanzlösungen, Extrakte und Matrixproben 39
Tabelle 11: Stabilität der Analyten in den Extrakten 41
Tabelle 12: Genauigkeit der analytischen Methode 43
Tabelle 13: Daten der positiven Fälle 48

7.3 Abkürzungsverzeichnis

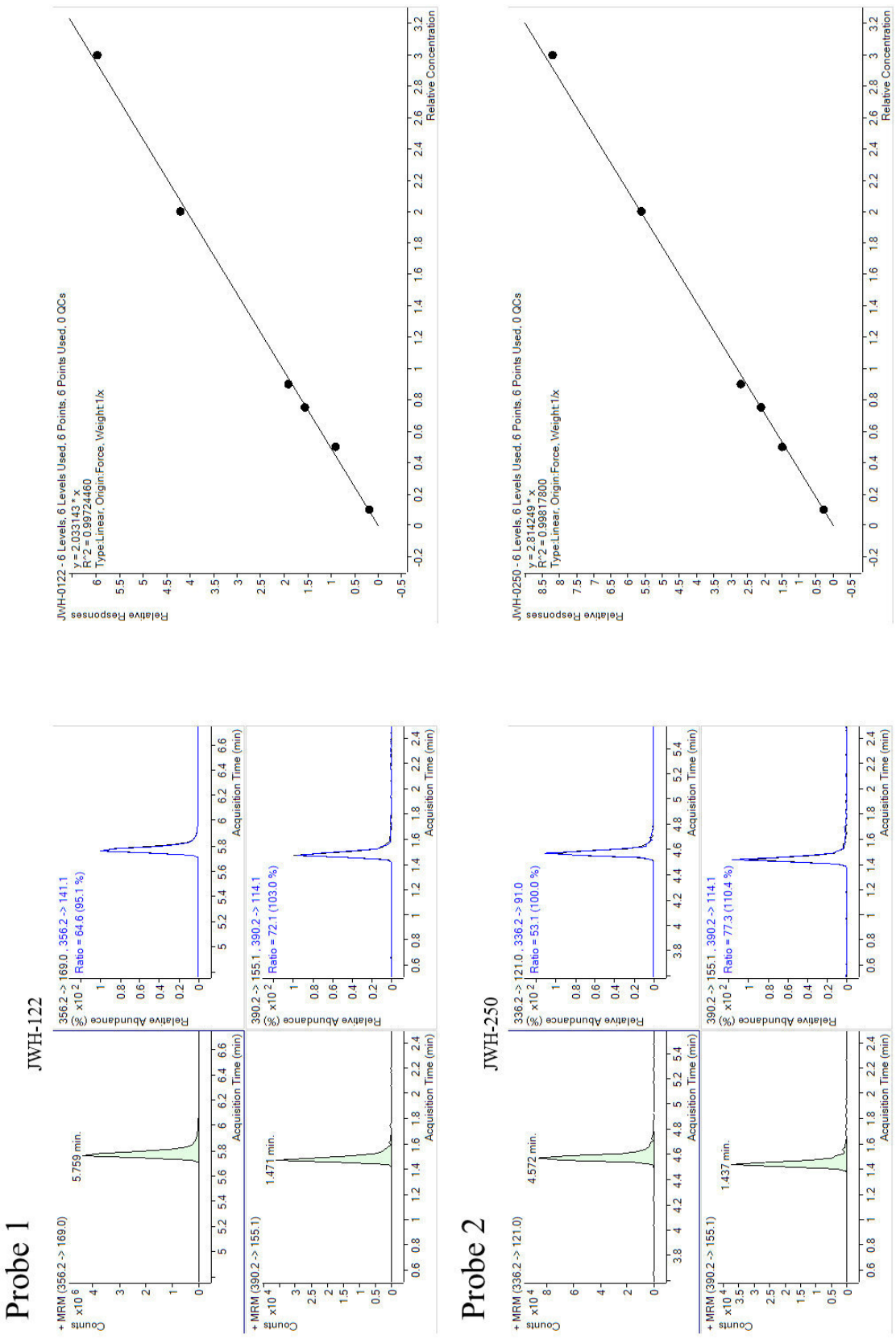
α-MSH:	*α-melanocyte-stimulation hormone*
Δ9-THC:	Δ9-Tetrahydrocannabinol
Δ9-THCA-A:	Δ9-Tetrahydrocannabinolsäure-A
AcCN:	Acetonitril
AIDS:	*Acquired Immunodeficiency Syndrom* (engl. für erworbenes Immundefektsyndrom)
AM:	Alexandros Makriyannis
BAK:	Blutalkoholkonzentration
BtmG:	Betäubungsmittelgesetzt
cAMP:	zyklisches Adenosinmonophosphat
CART:	*cocaine and amphetamine-related transcript*
CBD:	Cannabidiol
CP:	Charles Pfizer
CRH:	*corticotropin-releasing hormone*
GC-MS:	*gas chromatography-mass spectrometry* (engl. für Gaschromatographie-Massenspektrometrie)
HPLC:	*high performance liquid chromatography* (engl. für Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
HU:	Hebrew Universität
Isopropanol/HCl:	isopropanolische Salzsäure
ISTD:	interner Standard
JWH:	John William Huffman
LC-MSMS:	*liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (engl. für Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie)
LLOQ:	*Lower Limit of Quantification* (engl. für untere Bestimmungsgrenze)
LOD:	*Limit of Detection* (engl. für Nachweisgrenze)
LOQ:	*Limit of Quantification* (engl. für Bestimmungsgrenze)
MeOH:	Methanol
MRM:	*multiple reaction monitoring*

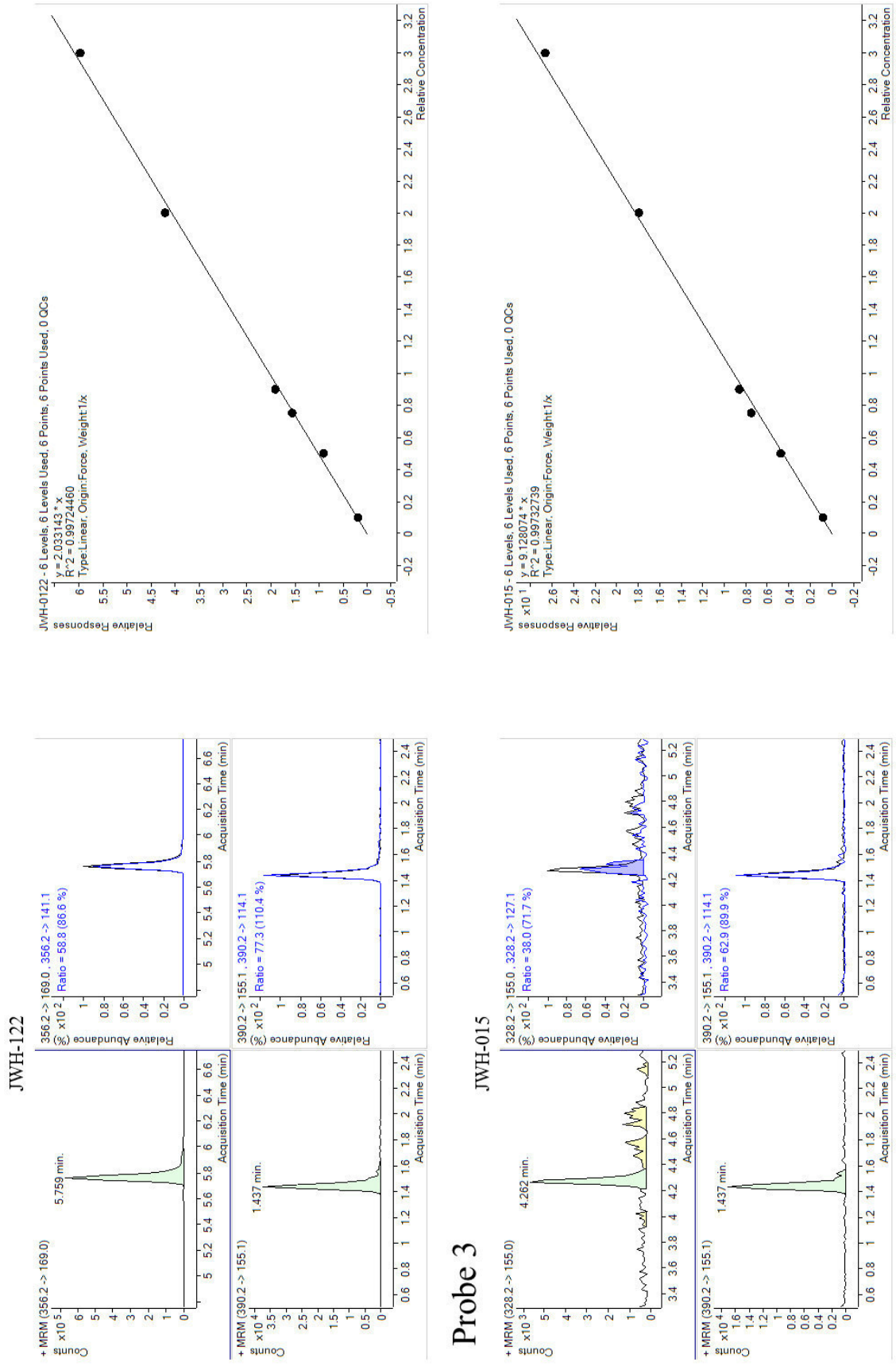
O:	Organix Inc.
P:	Kriminaldelikte
QC-Proben:	Qualitätskontrollproben
RCS:	*research chemical suppliers* (engl. für Forschungschemikalienlieferanten)
SC:	synthetische Cannabinoide
THC-COOH:	11-nor-9-Carboxy-THC
ULOQ:	*Upper Limit of Quantification* (engl. für obere Bestimmungsgrenze)
US:	United States (engl. für Vereinigte Staaten (von Amerika)
V:	Verkehrsdelikte
WIN:	Sterling-Winthrop

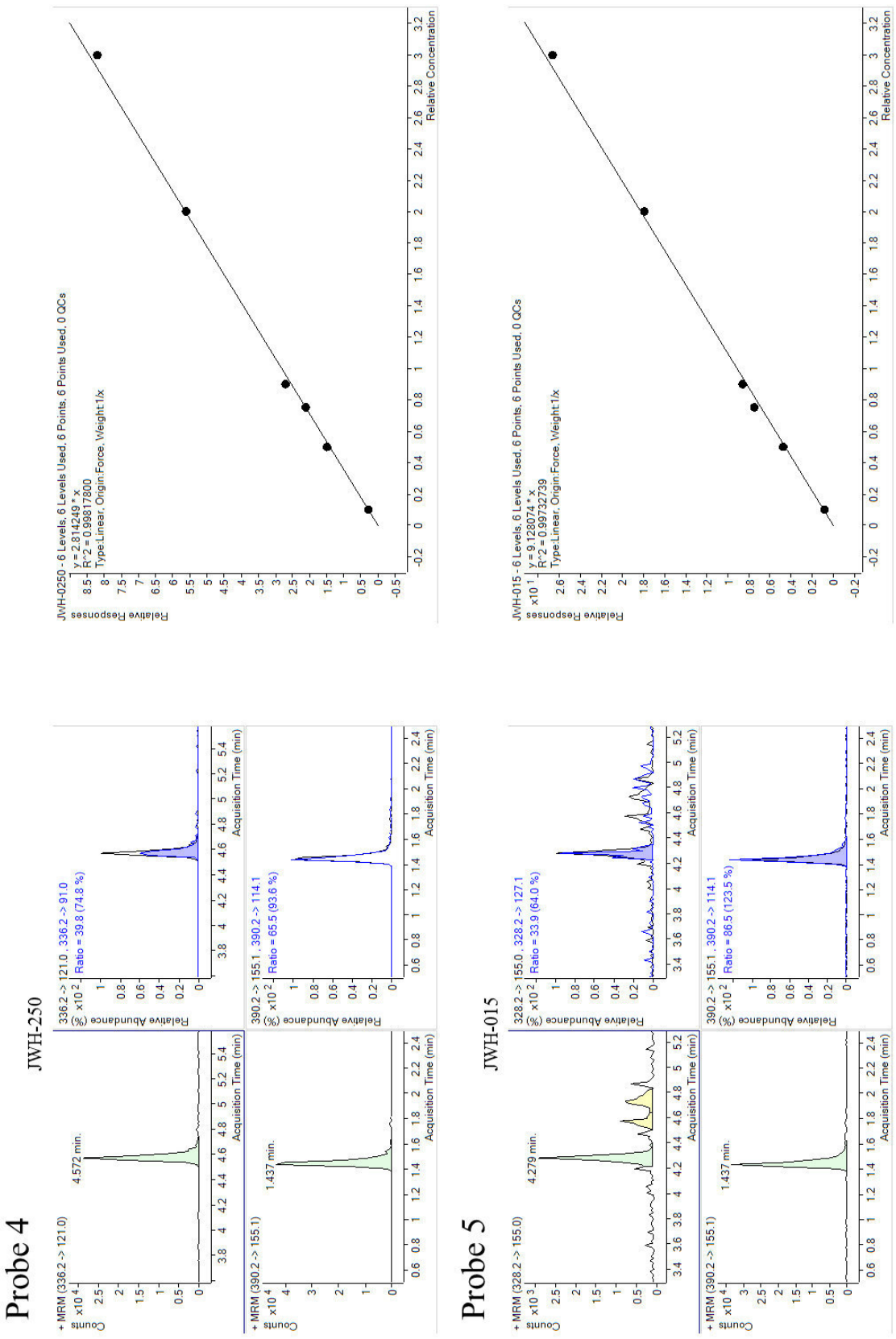
8 ANHANG

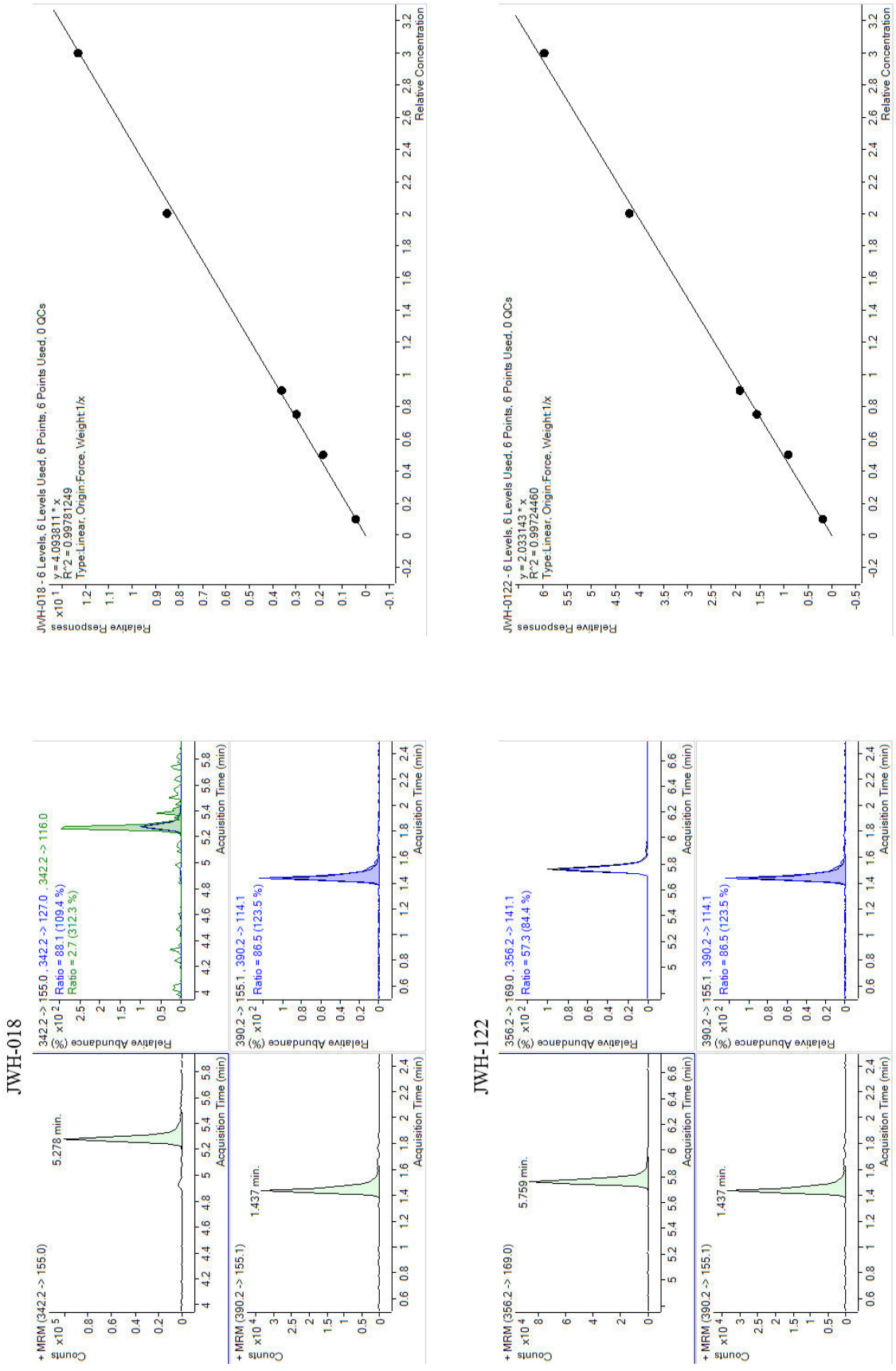
8.1 Nachweis von synthetischen Cannabinoiden in Blutproben mittels LC-MSMS

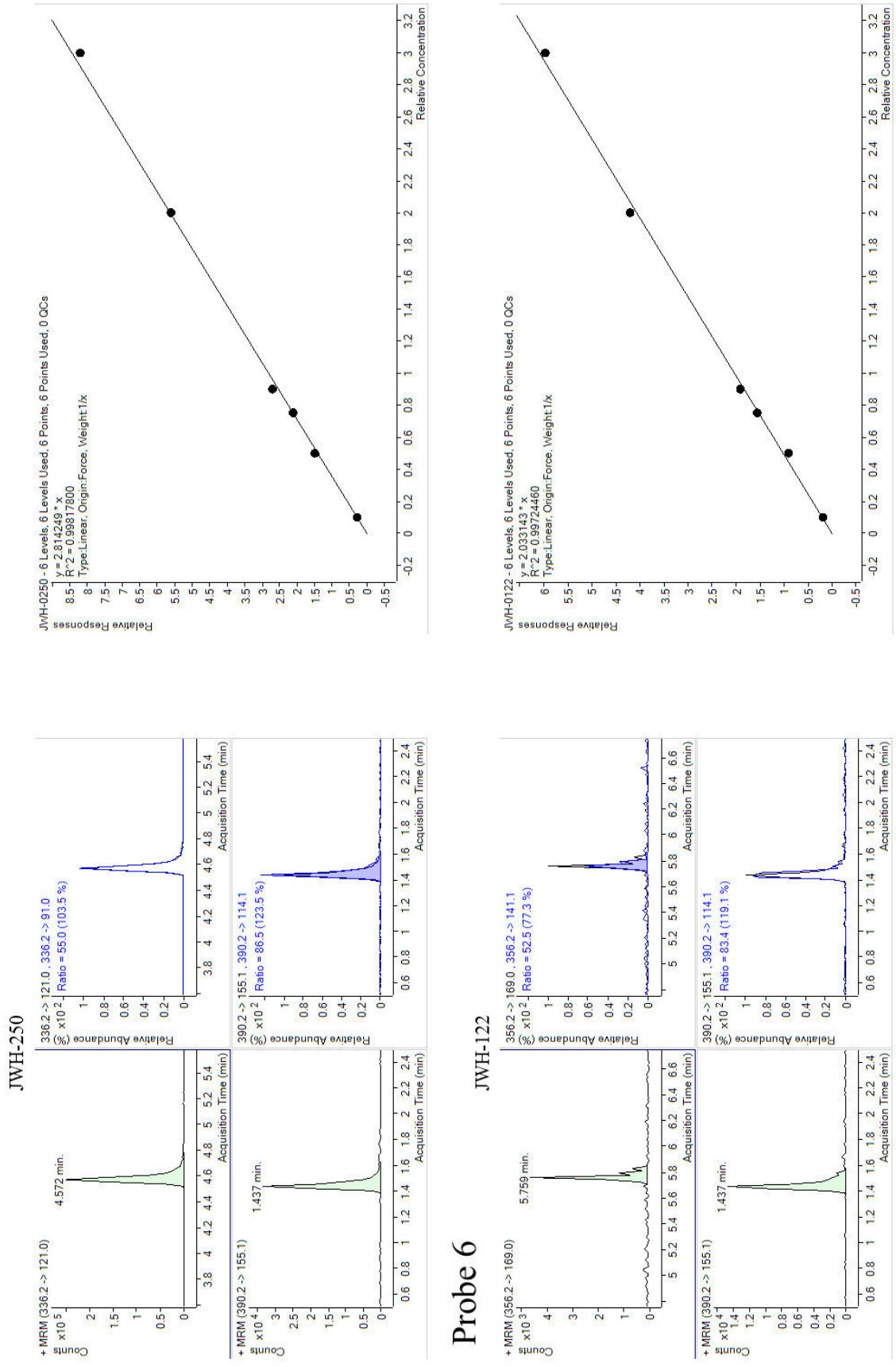
In 12 von 422 analysierten Blutproben wurden SC detektiert. Links oben: detektiertes SC. Links unten: ISTD. Blau: Qualifier für das SC (oben) und den ISTD (unten). Rechts: Darstellung der zur Bestimmung der Konzentration des jeweiligen SC benötigten Kalibrationskurve inklusive der QC-Proben. Zur Anonymisierung sind die originalen Probennummern nicht angegeben.

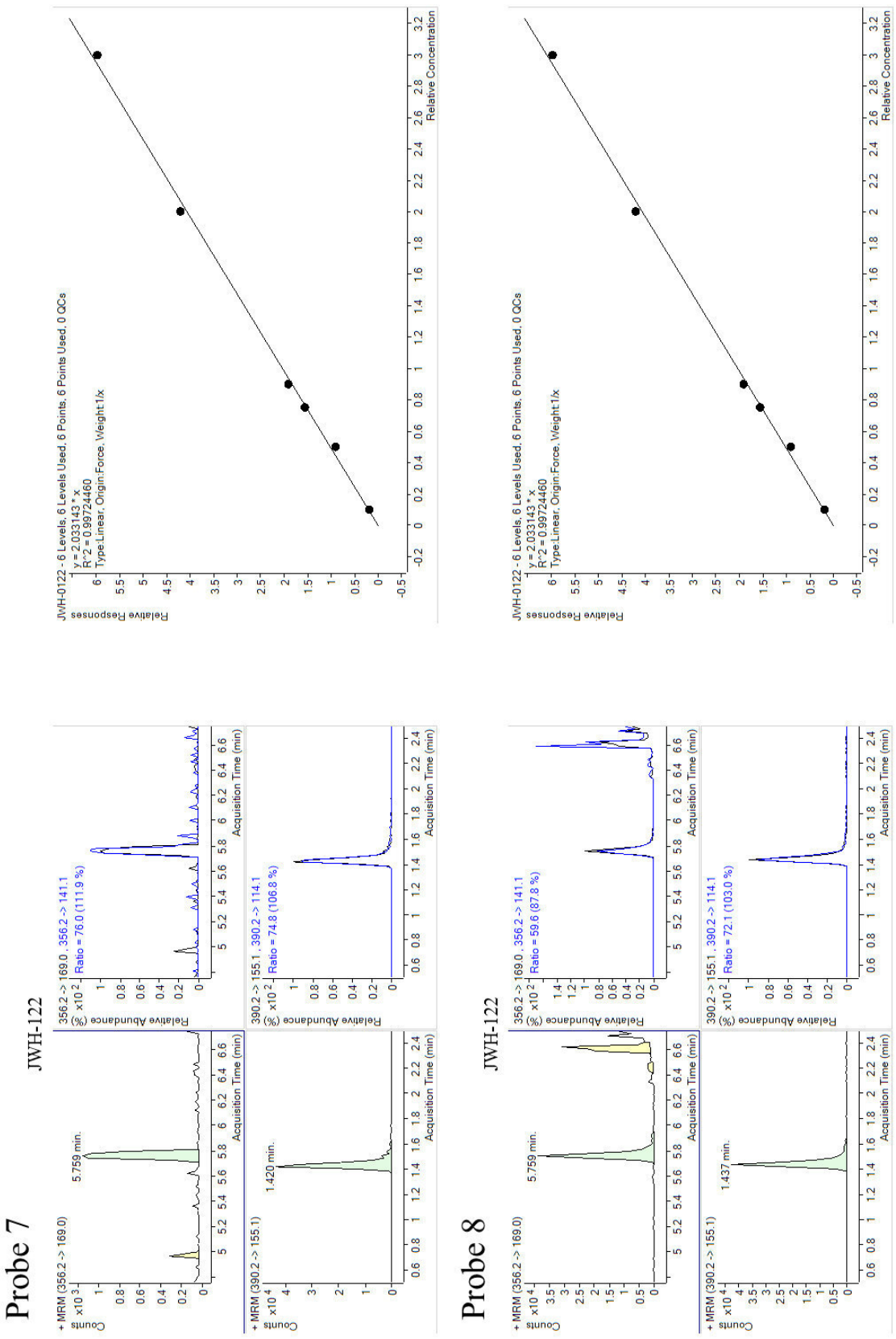

Probe 1
JWH-122
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.
356.2 -> 169.0 , 356.2 -> 141.1
Ratio = 64.6 (95.1 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.471 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 72.1 (103.0 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.99724460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Responses
Relative Concentration
Probe 2
JWH-250
+ MRM (336.2 -> 121.0)
4.572 min.
336.2 -> 121.0 , 336.2 -> 91.0
Ratio = 53.1 (100.0 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 77.3 (110.4 %)
JWH-0250 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.814249 * x
R^2 = 0.99817800
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x

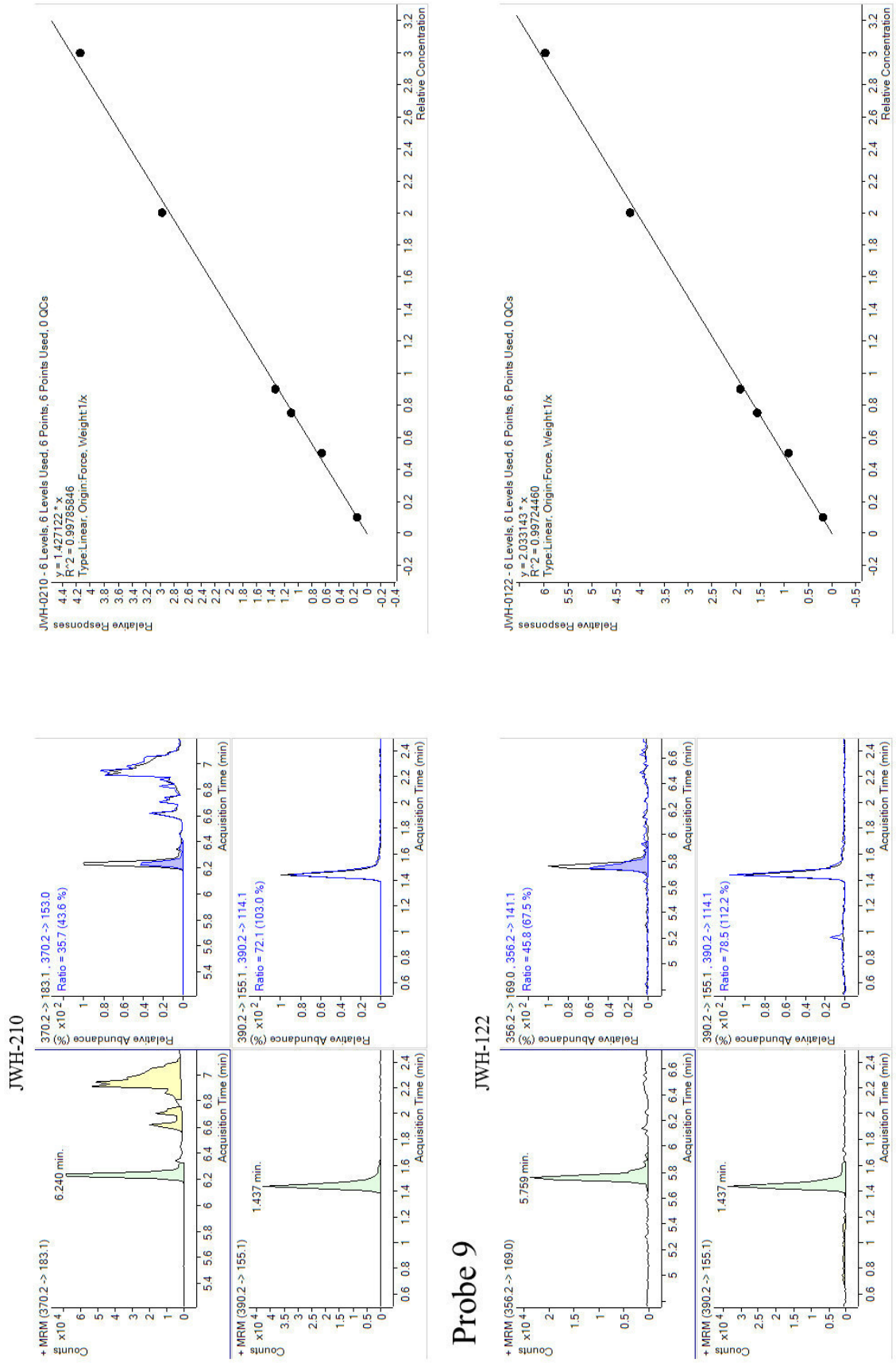

JWH-122
Probe 3
JWH-015
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.99724460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Responses
Relative Concentration
JWH-015 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 9.128074 * x
R^2 = 0.99732739
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.
356.2 -> 169.0 , 356.2 -> 141.1
Ratio = 58.8 (86.6 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 77.3 (110.4 %)
+ MRM (328.2 -> 155.0)
4.262 min.
328.2 -> 155.0 , 328.2 -> 127.1
Ratio = 38.0 (71.7 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 62.9 (89.9 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)

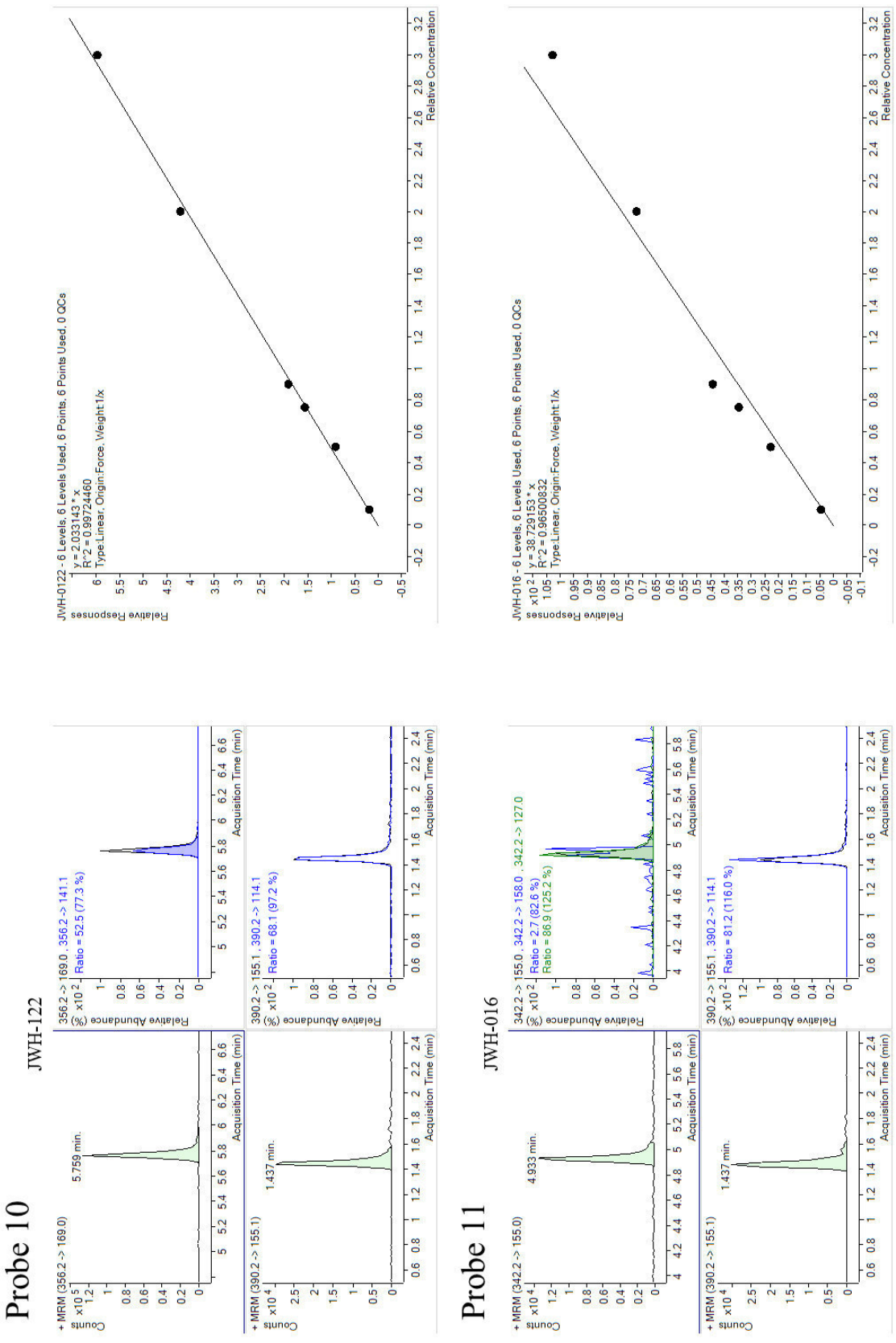

Probe 4
JWH-250
+ MRM (336.2 -> 121.0)
4.572 min.
336.2 -> 121.0 , 336.2 -> 91.0
Ratio = 39.8 (74.8 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 65.5 (93.6 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)
JWH-0250 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.814249 * x
R^2 = 0.99817800
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Responses
Relative Concentration
Probe 5
JWH-015
+ MRM (328.2 -> 155.0)
4.279 min.
328.2 -> 155.0 , 328.2 -> 127.1
Ratio = 33.9 (64.0 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 86.5 (123.5 %)
JWH-015 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 9.128074 * x
R^2 = 0.99732739
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x

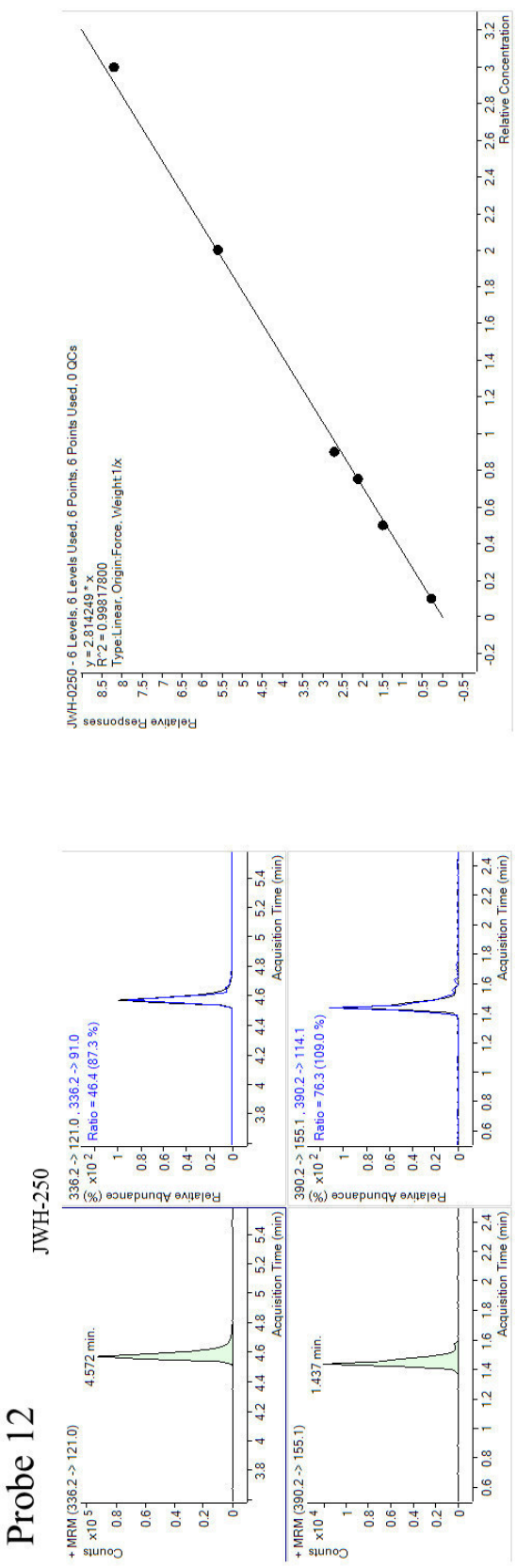

JWH-018
JWH-018 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 4.093811 * x
R^2 = 0.99781249
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Response
Relative Concentration
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.99724460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Response
Relative Concentration
342.2 -> 155.0, 342.2 -> 127.0, 342.2 -> 116.0
Ratio = 88.1 (109.4 %)
Ratio = 2.7 (312.3 %)
Relative Abundance
(%)
Acquisition Time (min)
390.2 -> 155.1, 390.2 -> 114.1
Ratio = 86.5 (123.5 %)
+ MRM (342.2 -> 155.0)
5.278 min.
Counts
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
JWH-122
356.2 -> 169.0, 356.2 -> 141.1
Ratio = 57.3 (84.4 %)
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.


JWH-250
JWH-0250 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.814249 * x
R^2 = 0.99817800
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Responses
Relative Concentration
336.2 -> 121.0, 336.2 -> 91.0
Ratio = 55.0 (103.5 %)
390.2 -> 155.1, 390.2 -> 114.1
Ratio = 86.5 (123.5 %)
+ MRM (336.2 -> 121.0)
4.572 min.
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)
Probe 6
JWH-122
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.99724460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
356.2 -> 169.0, 356.2 -> 141.1
Ratio = 52.5 (77.3 %)
390.2 -> 155.1, 390.2 -> 114.1
Ratio = 83.4 (119.1 %)
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.


JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.9972460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Responses
Relative Concentration
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.9972460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Responses
Relative Concentration
Probe 7
JWH-122
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.
356.2 -> 169.0 , 356.2 -> 141.1
Ratio = 76.0 (111.9 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.420 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 74.8 (106.8 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)
Probe 8
JWH-122
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.
356.2 -> 169.0 , 356.2 -> 141.1
Ratio = 59.6 (87.8 %)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 72.1 (103.0 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)


JWH-210
Probe 9
JWH-122
JWH-0210 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 1.427122 * x
R^2 = 0.99785846
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Response
Relative Concentration
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.99724460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
+ MRM (370.2 -> 183.1)
370.2 -> 183.1 , 370.2 -> 153.0
Ratio = 35.7 (43.6 %)
6.240 min.
+ MRM (390.2 -> 155.1)
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 72.1 (103.0 %)
1.437 min.
+ MRM (356.2 -> 169.0)
356.2 -> 169.0 , 356.2 -> 141.1
Ratio = 45.8 (67.5 %)
5.759 min.
Ratio = 78.5 (112.2 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)


Probe 10
JWH-122
+ MRM (356.2 -> 169.0)
5.759 min.
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
356.2 -> 169.0 , 356.2 -> 141.1
Ratio = 52.5 (77.3 %)
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 68.1 (97.2 %)
Counts
Relative Abundance (%)
Acquisition Time (min)
JWH-0122 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.033143 * x
R^2 = 0.9972460
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Response
Relative Concentration
Probe 11
JWH-016
+ MRM (342.2 -> 155.0)
4.933 min.
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
342.2 -> 155.0 , 342.2 -> 158.0 , 342.2 -> 127.0
Ratio = 2.7 (82.6 %)
Ratio = 66.9 (125.2 %)
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 81.2 (116.0 %)
JWH-016 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 38.729153 * x
R^2 = 0.96500832
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x


Probe 12
JWH-250
+ MRM (336.2 -> 121.0)
4.572 min.
Counts
Acquisition Time (min)
336.2 -> 121.0 , 336.2 -> 91.0
Ratio = 46.4 (87.3 %)
Relative Abundance (%)
+ MRM (390.2 -> 155.1)
1.437 min.
390.2 -> 155.1 , 390.2 -> 114.1
Ratio = 76.3 (109.0 %)
JWH-0250 - 6 Levels, 6 Levels Used, 6 Points, 6 Points Used, 0 QCs
y = 2.814249 * x
R^2 = 0.99817800
Type:Linear, Origin:Force, Weight:1/x
Relative Response
Relative Concentration

8.2 Lebenslauf

8.3 Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Retrospektive Analyse von Blutproben auf synthetische Cannabinoide – Prävalenz, Konsummuster und Ausfallserscheinungen

im Institut für Rechtmedizin in der Abteilung für forensischen Toxikologie unter Betreuung und Anleitung von Herrn Professor Dr. Stefan Tönnes mit Unterstützung durch Herrn Werner Pogoda ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden in folgenden Publikationsorganen veröffentlicht:

- Jaenicke NJ, Pogoda W, Paulke A, Wunder C, Toennes SW. Retrospective analysis of synthetic cannabinoids in serum samples – epidemiology and consumption patterns. Forensic Sci Int. 2014;242:81-87. doi:10.1016/j.forsciint.2014.06.010.
- Jaenicke N, Pogoda W, Wunder C, Paulke A, Tönnes S. Retrospektive Analyse von Blutproben auf synthetische Cannabinoide – Epidemiologie, Konsummuster und Ausfallerscheinungen. Rechtsmedizin. 2013;23(4):322–323. 92. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 17. - 21. September 2013 in Saarbrücken

Mörfelden-Walldorf, den 28.02.2017 Nathalie Spohner